

**DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA COLECCIÓN
DE CULTIVARES DE PERAL DEL CENTRO DE
INVESTIGACIONES AGRARIAS DE MABEGONDO
(CIAM, XUNTA DE GALICIA)**

Memoria presentada para optar al Grado de Doctor por la
Universidade de Santiago de Compostela por la Ingeniera Doña
Allívia Rouse Ferreira dos Santos



Universidade de Santiago de Compostela

Escola Politécnica Superior

Departamento de Producción Vexetal

Director: Dr. D. Santiago Pereira Lorenzo

Lugo, 2011

ISBN 978-84-9887-786-1 (Edición digital PDF)

D. Santiago Pereira Lorenzo, Dr. Ingeniero Agrónomo, Profesor Titular de la Universidad de Santiago de Compostela (USC) del Área de Producción Vexetal.

INFORMA

Que bajo su dirección, Dña. Allívia Rouse Ferreira dos Santos ha desarrollado la presente memoria titulada **“Diversidad genética de la colección de cultivares de peral del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM, Xunta de Galicia)”**, que presenta para optar al grado de Doctor.

Considerando que constituye un trabajo de Tesis Doctoral, autoriza su presentación en la Universidad de Santiago de Compostela para ser valorada por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste a los efectos oportunos, expide el presente certificado en Lugo a 04 de mayo de 2011.

El Director de Tesis

Fdo. Dr. D. Santiago Pereira Lorenzo

AGRADECIMIENTOS

A la Xunta de Galicia por haber financiado el proyecto “Estudio de variedades autóctonas de manzano y peral” (PGIDIT06RAG29103PR) y a las ayudas para la consolidación y estructuración del sistema gallego de I+D (INCITE07PXI303041ES, INCITE08E1R291055ES, INCITE09E2R291046ES y IN845B-2010/080) que han permitido la realización de este trabajo.

Al Ministerio de Asuntos Exteriores y de Cooperación, Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo para ciudadanos extranjeros y españoles de estudio en España y en el exterior, por la concesión de la beca MAEC-AECID desde el año 2008 para la realización de la Tesis Doctoral.

A la Profesora Dra. Dña. María Belén Díaz, a la investigadora Dra. Dña. Ana María Ramos Cabrer y, en especial, a mi Director Dr. D. Santiago Pereira Lorenzo, por la ayuda y enseñanzas que me han permitido elaborar la presente memoria.

A D. Juan Piñeiro Andión, conservador de la colección del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo, Xunta de Galicia, por la labor de conservación y apoyo para que este trabajo se llevase a cabo.

A D. Antonio Javier González, Ingeniero Agrónomo del Cabildo de La Palma por las dos variedades comerciales suministradas para comparación en el presente estudio.

A la Dra. Dña. Felicidad Fernández (Horticulture Research International – HRI, Reino Unido), por la ayuda en la selección de los SSRs y por las ocho variedades de referencia suministradas para comparación en este estudio.

Al Laboratorio de Genética de la Facultad de Veterinaria, donde se han resuelto los microsatélites presentados en este trabajo. Especialmente agradecemos la ayuda y colaboración de su director, el profesor Dr. D. Paulino Martínez Portela, así como de la profesora Dra. Dña. Carmen Bouza y de la técnica de laboratorio Lucía Ínsua García.

A mi familia por su apoyo constante a cada nuevo desafío y complicidad en todas las experiencias de mi vida. A mis amigos brasileños que, a pesar de distantes están muy cerca, comparten mis emociones.

Para todos aquellos que directa o indirectamente han contribuido a la consecución de este trabajo, mi más sincero agradecimiento.

RESUMEN

El Banco de Germoplasma del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM, Xunta de Galicia) incluye 221 accesiones de peral (*Pyrus* spp.) recogidas en las cuatro provincias de Galicia. Estas accesiones fueron comparadas con 20 variedades comerciales de *Pyrus* spp., 15 de ellas pertenecientes a la especie europea (*Pyrus communis* L.), mediante 19 microsatélites polimórficos. Además, en la colección del CIAM se estudiaron los estadios fenológicos y las características del fruto. En la colección se diferenciaron 127 genotipos del CIAM (además de los 20 comerciales), con una clonalidad del 43%, lo que indica la importancia de esta técnica para detectar duplicaciones, sinonimias y errores de identificación, así como la dificultad de diferenciar por morfología las variedades recogidas en el Banco de Germoplasma y la falta de herramientas moleculares en el momento del establecimiento de las colecciones. Los mecanismos de diversificación del peral en la colección del CIAM han sido, por orden de importancia, la selección de triploides con un 38%, la hibridación con un 16% y las introgresiones con un 4% (a su vez implicadas en los mecanismos de diversificación por hibridación). El elevado porcentaje de triploides en la colección del CIAM (38%), porcentaje superior al encontrado en manzano gallego (29%), se debe a la selección por parte de los agricultores a favor de estos individuos, propagándolos por injerto. Los individuos triploides produjeron frutos, de media, un 17% más grandes y pesados que los diploides. Las hibridaciones detectadas en este estudio (16%) fueron demostradas con SSRs al compartir los genotipos alelos para todos los loci evaluados. Los SSRs empleados han permitido detectar estructura genética en la colección y cultivares de referencia mediante un método Bayesiano, con cuatro poblaciones reconstruidas (RPPs): i) genotipos locales con la variedad francesa ‘Mantecosa Hardy’, ii) genotipos locales con cultivares de franceses e ingleses, entre ellas ‘Williams’, iii) genotipos del CIAM, probablemente con la contribución genética de las especies locales, y iv) cultivares asiáticos. Estos cuatro grupos evolucionaron de forma independiente. La diferenciación genética entre RPPs ha sido baja y se ha reflejado también en las características morfológicas y estadios fenológicos, de tal manera que las RPPs son difícilmente distinguibles, lo cual es

congruente con la excelente calidad de los cultivares de referencia que parece que están implicados en su origen, ‘Mantecosa Hardy’ y ‘Williams’, que habrían dado lugar a descendencias con pequeñas diferencias entre ellas. Las principales diferencias fenotípicas entre los genotipos han sido, por orden de importancia de las componentes principales: i) la fenología de la floración; ii) el tamaño y la forma del fruto; y iii) la fecha de recolección, el color de la chapa, el “russeting”, la presencia de moteado en el fruto y la dureza de la pulpa. Algunas de estas características también han sido importantes en la diferenciación de cultivares de manzano gallegos, lo cual está relacionado con el interés de los agricultores por la mejora de la producción por estas características.

ABSTRACT

The Germplasm Bank of the “Centro de Investigaciones de Mabegondo” (CIAM, Xunta de Galicia, Spain) has 221 accessions of pear (*Pyrus* spp.) from the four provinces of Galicia. In those accessions were studied the phenological stages and fruit characteristics. We compared the accessions from CIAM with 20 commercial varieties of *Pyrus* spp., 15 of them *Pyrus communis* L., using 19 polymorphic microsatellites. In the collection, we indentified 127 different genotypes (apart from the 20 commercial cultivars), with a clonality of 43%, indicating the importance of this technique to detect duplications, synonyms and misidentifications, as well as the difficulty to differentiate by morphology different cultivars when they were collected in the Germplasm Bank and the lack of molecular tools at that time. The mechanisms of diversification of pear in the collection of CIAM have been, in order of importance, selection of triploids (38%), hybridization (16%) and introgressions (4%). Genotypes related by hybridization in this study (16%) shared at least one allele per loci. Percentage of triploids in the collection from CIAM (38%) was higher than in apple (29%) in the same collection, what is due to the selection of triploids by farmers in order to get bigger fruits, propagating them after by grafting. Triploids produced, on average, fruits 17% larger and heavier than diploids. We identified genetic structure in the collection and reference cultivars using a Bayesian method, with four populations reconstructed (RPPs): i) local genotypes with the French variety ‘Mantecosa Hardy’; ii) local genotypes with English and French cultivars, including ‘Williams’; iii) genotypes from CIAM, probably with the genetic contribution of local species; and iv) Asian cultivars. These four groups evolved independently. Genetic differentiation between RPPs has been low and has also been reflected in the morphological and phenological stages, so that the RPPs are hardly distinguishable, which is consistent with the excellent quality of the cultivars of reference involved in their origin, such as ‘Mantecosa Hardy’ and ‘Williams’, which would produce offsprings with small differences between them. Main phenotypic differences between genotypes were, in order of importance of the three first principal components: i) flowering phenology; ii) size and shape of fruit; and iii) harvesting time, the over color, russeting, scab

and the hardness of the fruit. Some of these characteristics have also been important in the differentiation of apple cultivars in Galicia, and they are related to the interest of farmers in improving pear quality.

RESUMO

O Banco de Germoplasma de Mabegondo, pertencente ao “Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo” (CIAM, Xunta de Galicia, Galicia - Espanha), contém 221 acessos de pereiras (*Pyrus* spp.) coletadas em quatro províncias da Galicia. Os acessos do CIAM e mais 20 variedades comerciais de *Pyrus* spp., 15 delas pertencentes à pêra comum (*Pyrus communis* L.), foram comparados com 19 microssatélites (SSRs) polimórficos. Além disso, foram estudadas as fases fenológicas, e características morfológicas dos frutos dos acessos. Na coleção foram identificados clones que reduziram o número de genótipos de 221 a 127 (43%), além das 20 cultivares utilizadas como referência, indicando a importância dos SSRs para detectar duplicidades, sinônimos e erros de identificação, bem como a dificuldade de se diferenciar através da morfologia os acessos do Banco de Germoplasma, e a falta de ferramentas moleculares no momento da criação de Banco. Ao total, 147 genótipos foram analisados quanto à diversidade e estrutura genética. Os mecanismos de diversificação de pereiras na coleção do CIAM foram, em ordem de importância, a hibridação com 16% (com uma grande seleção de triploides, 38%) e introgressão com 4% (relacionado aos mecanismos de diversificação por hibridização). Os genótipos envolvidos na hibridação (16%) tiveram alelos compartilhados para todos os locos testados. A alta porcentagem de triploides na coleção do CIAM (38%) foi superior à encontrada na coleção macieiras galegas (29%) devido, provavelmente, à seleção dos agricultores propagando-os por enxertia. Genótipos triploides tiveram frutas, em média, 17% mais pesadas e maiores do que os diplóides. Além disso, usando o método Bayesiano para identificação da estrutura genética, foram encontradas quatro populações reconstruídas (RPPs) com: i) Genótipos locais, cultivares francesas e inglesas, incluindo ‘Williams’; ii) Genótipos locais e a variedade francesa ‘Mantecosa Hardy’; iii) Genótipos do CIAM, provavelmente com a contribuição genética de espécies locais; e iv) as cultivares asiáticas. Estes quatro grupos evoluíram de forma independente. A diferenciação genética entre RPPs foi baixa, o que refletiu também nas fases fenológicas, época de colheita, e características morfológicas. As RPPs são dificilmente distinguíveis, o que é consistente, pois a excelente qualidade das cultivares utilizadas como referência

estão envolvidos nas RPPs, como ‘Mantecosa Hardy’ e ‘Williams’, o que levaria aos indivíduos ligados geneticamente apresentarem características diferentes, mais muito similares. As principais diferenças fenotípicas entre genótipos, em ordem de importância, tendo como base os componentes principais, foram: i) época de floração; ii) tamanho e forma dos frutos; e iii) época de colheita, cor da chapa, a presença do pedrado e rugosidade no fruto, além da dureza da fruta. Algumas dessas características também foram importantes na diferenciação das cultivares de macieiras galegas, estando relacionado com o interesse dos agricultores no melhoramento dessas características na produção.

ÍNDICE

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 GENERALIDADES	3
1.2 LA PRODUCCIÓN DE PERA	3
1.3 EL ORIGEN DEL PERAL (<i>PYRUS SPP.</i>)	6
1.3.1 <i>PYRUS COMMUNIS</i>	8
1.4 EL CULTIVO DEL PERAL	11
1.5 ORIGEN DE LOS CULTIVARES	15
1.6 RECURSOS FITOGENÉTICOS DE PERAL	17
1.7 LOS MARCADORES MOLECULARES MICROSATÉLITES (SSRs)	19
1.8 ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA	22
1.9 VARIABILIDAD MORFOLÓGICA	30
1.9.1 ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD	31
1.9.1.1 CARACTERES CUANTITATIVOS	32
1.9.1.2 CARACTERES CUALITATIVOS	32
1.10 ANÁLISIS DE AGRUPACIONES	32
1.10.1 ANÁLISIS FACTORIAL DE CORRESPONDENCIAS (FCA)	33
1.10.2 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (ACP)	33
1.10.3 ANÁLISIS CLUSTER	34
2. OBJETIVOS	37
2.1 GENERAL	39
2.2 ESPECÍFICOS	39
3. MATERIAL Y MÉTODOS	41
3.1 MATERIAL VEGETAL	43
3.2 CARACTERIZACIÓN GENÉTICA	49
3.2.1 EXTRACCIÓN DE ADN	49
3.2.2 ESTIMACIÓN DE LA CALIDAD Y CANTIDAD DE ADN	50

3.2.3	<i>ANÁLISIS DE MICROSATÉLITES</i>	51
3.2.3.1	SECUENCIAS UTILIZADAS	51
3.2.3.2	REACCIÓN DE AMPLIFICACIÓN DE LA PCR ('POLYMERASE CHAIN REACTION')	54
3.2.3.3	AMPLIFICACIÓN DE LAS SECUENCIAS	54
3.2.3.4	PREPARACIÓN DE LOS GELES	55
3.2.3.5	ELECTROFORESIS Y SEPARACIÓN DE FRAGMENTOS	55
3.2.4	<i>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</i>	57
3.2.4.1	PERFIL DEL LOCI	57
3.2.4.1.1	FRECUENCIAS ALÉLICAS	57
3.2.4.1.2	ESTIMACIÓN DE ALELOS NULOS	57
3.2.4.2	CLONALIDAD	58
3.2.4.2.1	HETEROCIGOSIDAD	58
3.2.4.2.2	LOS ESTADÍSTICOS <i>F</i> DE WRIGHT	58
3.2.4.3	DISTANCIAS GENÉTICAS	58
3.2.4.4	ANÁLISIS DE ESTRUCTURA	59
3.2.4.5	ANÁLISIS FACTORIAL DE CORRESPONDENCIAS	60
3.3	CARACTERIZACIÓN DE LOS PERALES DEL CIAM	60
3.3.1	<i>DATOS DEL PASAPORTE</i>	60
3.3.1.1	NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN (IBPGR 1.1)	60
3.3.1.2	DENOMINACIÓN (IBPGR 2.12)	61
3.3.1.3	PROCEDENCIA (IBPGR 2.5)	61
3.3.2	<i>CARACTERIZACIÓN FENOLÓGICA</i>	61
3.3.3	<i>CLASIFICACIÓN MORFOLÓGICA</i>	63
3.3.3.1	CARACTERÍSTICAS VISUALES DE LA PERA	63
3.3.3.2	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LA PERA	68
3.3.3.3	ANÁLISIS DEL ZUMO DE LAS PERAS	69
3.3.4	<i>ANÁLISIS ESTADÍSTICOS</i>	70
3.3.4.1	PARÁMETROS INDIVIDUALES	70
3.3.4.2	CORRELACIONES	70
3.3.4.3	ANÁLISIS DE LA VARIANZA	70
3.3.4.4	FORMACIÓN DE LOS CUARTILES	71
3.3.4.5	ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES	72
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	73

4.1	MARCADORES MOLECULARES SSRs	75
4.1.1	<i>VARIABILIDAD GENÉTICA</i>	75
4.1.2	<i>FRECUENCIA ALÉLICA</i>	84
4.1.2.1	CH01D03	84
4.1.2.2	CH01D08	85
4.1.2.3	CH01D09	86
4.1.2.4	CH01F07A	88
4.1.2.5	CH02B10	89
4.1.2.6	CH02C09	91
4.1.2.7	CH02C11	93
4.1.2.8	CH02D11	94
4.1.2.9	CH03D12	96
4.1.2.10	CH03G07	97
4.1.2.11	CH04C07	99
4.1.2.12	CH04E03	100
4.1.2.13	CH05A02	101
4.1.2.14	CH05C06	103
4.1.2.15	CH-VF1	104
4.1.2.16	EMPC11	106
4.1.2.17	EMPC117	107
4.1.2.18	GD142	109
4.1.2.19	GD147	110
4.1.3	<i>HETEROCIGOSIDAD Y ESTADÍSTICOS F</i>	112
4.1.4	<i>SIMILARIDAD GENÉTICA CONSIDERANDO LAS ZONAS DE RECOLECCIÓN DE LOS GENOTIPOS</i>	116
4.1.5	<i>SIMILARIDAD GENÉTICA ENTRE GENOTIPOS</i>	117
4.1.6	<i>ESTIMACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA</i>	130
4.2	CARACTERIZACIÓN FENOLÓGICA	144
4.3	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL FRUTO	156
4.3.1	<i>CARACTERES FENOTÍPICOS CUANTITATIVOS</i>	156
4.3.2	<i>CARACTERES FENOTÍPICOS CUALITATIVOS</i>	159
4.3.3	<i>CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y ORGANOLÉPTICAS</i>	165
4.4	ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES	171

5. CONCLUSIONES	183
------------------------	------------

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	187
--------------------------------------	------------

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Principales países productores, producción entre 1989 y 2002 (x1000t) y cultivares de pera (FAO, 2004).....	4
Tabla 2. Distribución del peral y producción de pera en el año 2008 (MAPA, 2010).....	5
Tabla 3. Distribución del peral y producción de pera en Galicia en el año 2008 (MAPA, 2010).....	5
Tabla 4. Especies de <i>Pyrus</i> y su distribución [adaptado de Westwood (1982), Zeven y Zhukovsky (1975) y Bell et al. (1996)].	7
Tabla 5. Procedencia de los principales cultivares europeos de peral [adaptado de Brooks y Olmo (1997)].	12
Tabla 6. Producción de pera (x1000t) por variedad entre 1999 y 2010 en la Unión Europea (adaptado de WAPA - The world apple and pear association, 2011).	13
Tabla 7. Producción de pera (x1000t) por variedad entre 1999 y 2007 en España (adaptado de WAPA - The world apple and pear association, 2011).	14
Tabla 8. Variedades de pera encontradas en Galicia (Herrero, 1964).....	15
Tabla 9. Composición de las colecciones de peras españolas (modificado de Lateur et al., 2002).....	18
Tabla 10. Codificación binaria según la presencia (1) y/o ausencia (0) del alelo.	30
Tabla 11. Acciones de peral recogidas en el CIAM (Xunta de Galicia) y su procedencia.	44
Tabla 12. Variedades comerciales de <i>Pyrus</i> spp. estudiadas como referencias.	48
Tabla 13. Características de los microsatélites utilizados en <i>Pyrus</i> spp.....	53
Tabla 14. Composición de la solución de amplificación de la PCR.	54
Tabla 15. Condiciones de la PCR para los microsatélites utilizados (Fernández-Fernández et al., 2008).	54
Tabla 16. Código de la forma en función de la relación longitud y diámetro, posición del diámetro máximo y el perfil lateral del fruto de la pera [adaptado de IBPGR (1983)].	66
Tabla 17. Repeticiones encontradas entre 136 acciones del CIAM (Xunta de Galicia) y comerciales de referencia utilizando 19 marcadores SSRs.....	77
Tabla 18. Alelos (pb) encontrados en 20 loci (19 SSRs) para los cultivares de peral utilizados como referencia.	80
Tabla 19. Estimaciones de alelos nulos mediante el programa informático Micro-Checker [Chakraborty et al. (1992); Brookfield (1996)] en genotipos de peral utilizando 19 SSRs.....	81
Tabla 20. Rango y tamaños alélicos (pb) para 20 loci polimórficos en 221 acciones de peral (<i>Pyrus</i> spp.) de Galicia y 20 comerciales de referencia.....	82
Tabla 21. Número de alelos específicos para 20 loci polimórficos en genotipos de peral de Galicia y cultivares comerciales de referencia.....	83
Tabla 22. Número total de alelos para 20 loci polimórficos en genotipos de peral de Galicia y comerciales de referencia.....	83
Tabla 23. Heterocigosidad para 127 genotipos de peral de Galicia y 20 variedades comerciales de referencia con 19 SSRs.	113
Tabla 24. Valores de F_{IS} y F_{IT} para 127 genotipos de peral pertenecientes a la colección del CIAM (Xunta de Galicia) y 20 cultivares comerciales de referencia con 19 SSRs.....	115
Tabla 25. Valores de F_{ST} para 127 genotipos de peral perteneciente al CIAM (Xunta de Galicia) y 20 variedades comerciales de referencia utilizando 19 SSRs.	115
Tabla 26. Alelos (pb) encontrados en 20 loci en los genotipos de peral relacionados por hibridación de Galicia y cultivares comerciales de referencia.....	122
Tabla 27. Grupos formados al nivel de 17% de similitud genética en el dendrograma generado por el coeficiente de Jaccard y el método UPGMA para los genotipos de peral de Galicia y variedades de referencia utilizando 19 SSRs.	125

Tabla 28. Denominaciones iniciales y finales para los perales del CIAM (Xunta de Galicia) agrupados por genotipos únicos.....	126
Tabla 29. Asignación de 94 genotipos diploides de peral para K=2 poblaciones reconstruidas (RPPs) según STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 y 19 SSRs.	133
Tabla 30. Genotipos diploides clasificados en las dos poblaciones reconstruidas (RPPs, K=2) por STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 y 19 SSRs.	133
Tabla 31. Asignación de genotipos diploides a las 4 poblaciones reconstruidas (RPPs; K=4) mediante STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 y 19 SSRs.	134
Tabla 32. AMOVAs para las agrupaciones originales y poblaciones reconstruidas (RPPs; K=2 y K=4) con el programa informático STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) determinados con 13 y 19 SSRs.	136
Tabla 33. Valores de R_{ST} y F_{ST} para dos y cuatro poblaciones reconstruidas (RPPs) definidas por STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 y 19 SSRs, estimados con Genodive.....	137
Tabla 34. Genotipos diploides clasificados en las cuatro poblaciones reconstruidas (RPPs, K=4) por STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 y 19 SSRs.....	138
Tabla 35. Correlaciones de Pearson entre los estadios fenológicos con las poblaciones reconstruidas (RPPs), ploidía y las coordenadas geográficas para la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).	149
Tabla 36. Valores medios para los estadios fenológicos de las poblaciones reconstruidas (RPPs) para los genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia).	154
Tabla 37. Valores de F en los análisis de varianza de los datos de morfología de los frutos de la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).	156
Tabla 38. Variabilidad de los datos cuantitativos para las características de los frutos de perales del CIAM (Xunta de Galicia).	157
Tabla 39. Cuartiles para las características de los frutos de la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).....	157
Tabla 40. Valores de F de los caracteres cuantitativos de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia) teniendo en cuenta las RPPs (repoblaciones reconstruidas) determinadas por el programa STRUCTURE.....	158
Tabla 41. Valores medios por población reconstruida (RPP) para las características de los frutos de los perales del CIAM (Xunta de Galicia).	158
Tabla 42. Valores de F de los caracteres de los frutos de los perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia) teniendo en cuenta la ploidía.....	158
Tabla 43. Correlaciones de Pearson para las características externas de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).	159
Tabla 44. Frecuencias de los caracteres cualitativos de los frutos de los perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).	160
Tabla 45. Correlaciones de Pearson para las características cualitativas de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).	162
Tabla 46. Correlación de Pearson para las características externas cualitativas de los frutos de los perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).....	163
Tabla 47. Correlaciones de Pearson para las características cualitativas de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).	164
Tabla 48. Valores de F en el análisis de los datos de dureza en los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).	166
Tabla 49. Variabilidad de la dureza en los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).....	166
Tabla 50. Cuartiles para las características de la dureza en los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).	166
Tabla 51. Valores de F en los análisis de varianza de los datos de la dureza en los frutos de perales del CIAM (Xunta de Galicia) teniendo como factor las RPPs.	166
Tabla 52. Valores medios por población reconstruida (RPP) para las características de la dureza en los frutos de los perales del CIAM (Xunta de Galicia).	166

Tabla 53. Valores de F en los análisis de varianza de los datos de la dureza en los frutos de la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia) teniendo como factor la ploidía.	166
Tabla 54. Frecuencias de los datos cualitativos para las características de los frutos de perales del CIAM (Xunta de Galicia).	167
Tabla 55. Valores de F de los análisis de varianza de las características de los zumos de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).	167
Tabla 56. Variabilidad de los datos cuantitativos de los zumos de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).	168
Tabla 57. Cuartiles de las características de los zumos de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).	168
Tabla 58. Valores de F en los análisis de varianza de los datos de los zumos de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia) según las RPPs.	168
Tabla 59. Valores medios por población reconstruida (RPP) para las características de los zumos de los frutos de los perales del CIAM (Xunta de Galicia).	169
Tabla 60. Valores de F en los análisis de varianza de los datos de los zumos de los de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia) según la ploidía.	169
Tabla 61. Correlaciones de Pearson para las características físicas, organolépticas y químicas de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).	170
Tabla 62. Vectores propios mayores o inferiores a 0,1 en las tres primeras componentes para 19 variables de morfología, 15 de fenología y 27 alelos principales en un análisis de componentes principales con 395 variables evaluadas en los perales pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).	174
Tabla 63. Vectores propios de las tres primeras componentes principales (F1, F2 y F3) para 26 caracteres morfológicos, 9 estadios fenológicos y 27 alelos para los perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).	178
Tabla 64. Vectores propios de las tres primeras componentes principales (F1, F2 y F3) para 49 caracteres morfológicos, 15 estadios fenológicos para los perales de la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).	182

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Distribución de las formas silvestres de <i>Pyrus</i> y <i>P. communis</i> [adaptado de Browicz (1984); Zohary y Hopf (2000)].	8
Figura 2. Peral (<i>Pyrus communis</i> L.) (Thomé, 1885-1905).	10
Figura 3. Electroforesis en gel de agarosa del ADN de diversas muestras de perales para su cuantificación teniendo como referencia el patrón de λ .	51
Figura 4. Visualización en gel de agarosa del producto de la electroforesis de la PCR utilizando las muestras de ADN de peral (<i>Pyrus</i> spp.).	56
Figura 5. Interpretación de las lecturas obtenidas por el analizador de fragmentos ABI 3730 en el programa Peak Scanner v.1.0 en función del locus y tamaño alélico.	56
Figura 6. Consideraciones preliminares de los estadios fenológicos de peral [basado en Fleckinger (1964)].	62
Figura 7. Longitud (L) de la pera [adaptado de UPOV (2000)].	63
Figura 8. Posición del diámetro máximo de la pera [adaptado de UPOV (2000)].	64
Figura 9. Diámetro máximo (DM) de la pera [adaptado de UPOV (2000)].	64
Figura 10. Distancia al diámetro máximo (DDM) de la pera [adaptado de UPOV (2000)].	65
Figura 11. Perfil lateral de la pera [adaptado de UPOV (2000)].	65
Figura 12. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH01d03.	84
Figura 13. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH01d08.	86
Figura 14. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH01d09.	87
Figura 15. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH01f07a.	88
Figura 16. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH02b10.	90
Figura 17. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH02c09.	92
Figura 18. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH02c11.	93
Figura 19. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH02d11.	95
Figura 20. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH03d12.	96
Figura 21. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH03g07.	98
Figura 22. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH04c07.	99
Figura 23. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH04e03.	101
Figura 24. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH05a02.	102
Figura 25. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH05c06.	103
Figura 26. Frecuencias alélicas de genotipos de peral de Galicia y de variedades comerciales de referencia para el locus CH-Vf1.	105
Figura 27. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus EMPc11.	106

Figura 28. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus EMPc117.....	108
Figura 29. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus GD142.....	109
Figura 30. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus GD147.....	111
Figura 31. Dendrograma construido con la distancia genética Nei (1978) según la provincia de origen de los cultivares de peral pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia) y variedades comerciales de referencia mediante 19 SSRs.	116
Figura 32. Análisis factorial de correspondencias de los cultivares de peral del CIAM (Xunta de Galicia), según sus provincias de origen, y cultivares de referencia analizados con 19 (A) y 13 SSRs (B).	117
Figura 33. Dendrograma de similitud genética generado por el coeficiente de Jaccard y el método UPGMA para los 147 genotipos diferenciados de peral.....	119
Figura 34. Valores de ΔK definidos por el método de Evanno et al. (2005) para la formación de los RPPs ('Reconstructed Panmictic Populations') para los 94 genotipos diploides de peral pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia) y variedades comerciales de referencia.	131
Figura 35. Poblaciones reconstruidas (RPPs) obtenidas mediante STRUCTURE (Pritchard et., 2000) para 94 genotipos diploides de peral pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia) y cultivares de referencia para K=2 mediante 13 (A, C) y 19 (B, D) SSRs.....	132
Figura 36. Cuatro poblaciones reconstruidas (RPP1 a 4) obtenidas con STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 (A, B, E) y 19 SSRs (C, D, F) a partir de 94 genotipos diploides de <i>Pyrus</i> spp. con (A, C) y sin (B, D) peras asiáticas.	135
Figura 37. Dendrograma de similitud genética del coeficiente de Jaccard para 147 genotipos de peral con 19 SSRs. Las poblaciones reconstruidas (RPP1 a RPP4) se han indicado (para los genotipos diploides) en paréntesis para K=2 y K=4 obtenidos a partir del análisis de STRUCTURE con 13 SSRs.	141
Figura 38. Estadios fenológicos de los genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia).....	144
Figura 39. Distribución de los perales del CIAM (Xunta de Galicia) para los estadios fenológicos correspondientes al comienzo de la hinchazón de las yemas (B, C y C3).	145
Figura 40. Estadios fenológicos correspondientes a la aparición de los botones florales (D y D3) en los genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia).....	145
Figura 41. Caracterización fenológica de los estadios en que los pétalos dejan ver los sépalos (E) y la aparición de las primeras flores cerradas (E2) en la colección de genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia).....	146
Figura 42. Época de plena floración de los genotipos de peral pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).....	146
Figura 43. Caracterización del inicio (IF) y final (FF) de la floración para los genotipos de peral pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).....	147
Figura 44. Caracterización de los estadios fenológicos de la caída de los primeros (G) y últimos (H) pétalos en la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).....	147
Figura 45. Caracterización de los estadios fenológicos del engrosamiento de los frutos (I, J) en la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).	148
Figura 46. Época de recolección de los frutos de la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).	148
Figura 47. Estadios fenológicos de los genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia) ordenados por fecha de plena floración.	151
Figura 48. Estadios fenológicos de los genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia) ordenados por fecha de recolección (R).....	153
Figura 49. Clasificación de los genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia) ordenados por las poblaciones reconstruidas, la fecha de plena floración (PF) y la fecha de recolección (R).....	155
Figura 50. Relación entre el número de componentes principales (F), su valor propio y la variabilidad acumulada resultante del análisis de componentes principales (ACP) con	

49 variables morfológicas, 15 estadios fenológicos y 331 alelos de los perales del CIAM (Xunta de Galicia).	171
Figura 51. Análisis de componentes principales (ACP) con 49 variables morfológicas, 15 estadios fenológicos y 331 alelos teniendo en cuenta las poblaciones reconstruidas (RPPs) para los perales pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).	173
Figura 52. Relación entre el número de componentes principales (F), su valor propio y la variabilidad acumulada resultante del análisis de componentes principales con 26 variables morfológicas, 9 estadios fenológicos y 27 alelos de los perales del CIAM (Xunta de Galicia).	175
Figura 53. Análisis de componentes principales para 26 caracteres morfológicos, 9 fenológicos y 27 alelos según las RPPs para los perales del CIAM.	177
Figura 54. Relación entre el número de componentes principales (F), su valor propio y la variabilidad acumulada resultante del análisis de componentes principales con 49 datos morfológicos y 15 fenológicos de los frutos de los perales pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).	179
Figura 55. Análisis de componentes principales con base en 49 caracteres morfológicos, 15 estadios fenológicos teniendo en cuenta los RPPs para los genotipos de perales pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).	181

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades

El peral (*Pyrus* spp.) es una especie frutal de pepita de las zonas templadas. Existen referencias del cultivo del peral durante las dinastías chinas Tsing y Han hace 2000 años (Fisher, 2009). Se conoce el consumo de peras silvestres por parte de los habitantes de Babilonia y Persia. Las evidencias arqueológicas muestran que las peras fueron recolectadas en la naturaleza mucho antes de la introducción de su cultivo. Teofrasto, Catón el Viejo y Plinio el Viejo recogen información acerca del cultivo e injerto de los perales (Zohary y Hopf, 2000).

El cultivo de variedades de peral en Europa se remonta a hace unos 1000 años (Fisher, 2009). Se cree que las áreas de cultivo de peral más importantes de la Edad Media estaban en Bélgica, norte de Francia e Italia, que es donde se encontraron las descripciones más antiguas de variedades de peral (Janick, 2002).

La domesticación de las peras asiáticas empezó en China hace unos 2000 años. Hoy en día, se conocen más de 1000 variedades. En Europa, la aparición de la mayor parte de las variedades europeas se produce entre los siglos XVI y XIX, especialmente en Francia y Bélgica, donde jardineros, monjes y viveristas trabajaban para seleccionar nuevas variedades. La mejora genética del peral se inició a principios del siglo XX en Bélgica, Francia, EE.UU. y Alemania. Hoy en día, el interés en esta especie parece haberse reducido. Sin embargo, instituciones científicas y privadas en Canadá, EE.UU., Francia, Italia, República Checa, Rumania, Alemania, Suiza, Japón, China y Corea, están logrando éxitos notables en la obtención de nuevas variedades, en algunos casos mediante hibridaciones entre variedades asiáticas y europeas (Fisher y Weber, 2005; Fischer, 2009).

1.2 La producción de pera

La producción de pera se está incrementando, en particular en los países con excelentes condiciones climáticas, como en los del sur de Europa, China, Argentina y Chile. En Asia oriental predomina la pera asiática, mientras que en todos los demás países existe una mayor tendencia a cultivar la pera europea (Tabla 1) (Fisher, 2009; FAO, 2004).

Tabla 1. Principales países productores, producción entre 1989 y 2002 (x1000t) y cultivares de pera (FAO, 2004).

País	1989-1992	1999-2002	%	Cultivares más importantes
China	2689	8679	+223	Ya Li, Tsu Li, Xuehua Li
Italia	892	896	+1	Abbe Fetel, Bartlett, Conference
EE. UU.	841	861	+2	Anjou, Bartlett, Bosc
España	509	685	+34	Blanquilla, Conference
Argentina	265	546	+106	Bartlett, Packhams
Japón	437	388	-11	Kosui, Hosui, Nijisseiki
Turquía	417	369	-11	Santa Maria, Coscia, Ankara
Corea del Norte	174	347	+99	Niitaka
Sudáfrica	197	291	+48	Packhams, Bartlett, Forelle
Francia	345	269	-22	Bartlett, Guyot
Total	9870	16606	+68	Ya Li, Bartlett, Tsu Li

La producción mundial de *P. communis* depende de relativamente pocas variedades. ‘Bartlett’ (‘Williams’) es la variedad principal en muchos países, seguida de ‘Beurre Bosc’, ‘Conference’, ‘Passe Crassane’ y ‘Comice’ ó ‘Decana del Comicio’. Los cultivares de pera asiática más importantes son ‘Nijisseiki’, ‘Kosui’, ‘Chorujó’ y ‘Hosui’. Algunos cultivares asiáticos, como ‘Tsu Ya Li’ y ‘Li’, proceden de las especies chinas como *P. ussuriensis* (Maxim.) y *P. bretschneideri* (Rehd.) (Fisher, 2009).

En España, Cataluña y Aragón producen el 47,13% y 17,58%, respectivamente, de la producción total de pera del país. Galicia representa menos del 1,92% de la producción, situándose en la novena posición respecto a otras comunidades (MAPA 2010, Tabla 2).

Tabla 2. Distribución del peral y producción de pera en el año 2008 (MAPA, 2010).

Región	Superficie (ha)	Árboles diseminados	Producción (t)	Producción (%)
Cataluña	12934	27636	253903	47,13
Aragón	5729	-	94707	17,58
La Rioja	2296	-	53923	10,01
R. de Murcia	1651	-	38251	7,10
Extremadura	1525	2000	31961	5,93
Navarra	1097	5500	16084	2,99
Castilla y León	893	91139	12403	2,30
Andalucía	775	33134	10874	2,02
<i>Galicia</i>	<i>836</i>	<i>253499</i>	<i>10336</i>	<i>1,92</i>
C. Valenciana	917	5945	9527	1,77
Canarias	133	56745	2038	0,38
Castilla-La-Mancha	122	35338	1963	0,36
País Vasco	162	75135	1620	0,30
P. de Asturias	30	50000	400	0,07
Cantabria	31	17500	373	0,07
Baleares	79	4500	229	0,04
Madrid	6	4625	83	0,02
España	29216	662696	538675	100,00

En Galicia, en la actualidad, la producción comercial de pera tiene una importancia pequeña. Sin embargo, en el pasado ha debido tener gran relevancia, si se tiene en cuenta el elevado número de árboles diseminados (MAPA 2010, Tabla 3). Esta riqueza se refleja también en la importante colección de perales existente en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM), Xunta de Galicia.

Tabla 3. Distribución del peral y producción de pera en Galicia en el año 2008 (MAPA, 2010).

Provincia	Superficie (ha)	Árboles diseminados	Producción (t)
A Coruña	288	117511	3362
Lugo	217	22951	2421
Ourense	196	74643	2781
Pontevedra	135	38394	1772
Total	836	253499	10336

1.3 El origen del peral (*Pyrus* spp.)

El peral, género *Pyrus*, forma parte de la división Angiospermae, clase Dicotyledoneae, orden Rosales, familia Rosaceae, y subfamilia Maloideae. Este género se distingue por poseer 17 pares de cromosomas, en comparación con los 7 a 9 pares que presentan las otras subfamilias (Sax, 1931; Zielinski y Thompson, 1967; Hancock y Lobos, 2008).

El género *Pyrus* surgió posiblemente durante el período Terciario en las montañas del oeste de China y, probablemente, a partir de los taxones originarios se dispersó hacia el este y el oeste a través de las cadenas de montañas. La especiación puede haber estado asociada con el aislamiento geográfico de las poblaciones (Rubtsov, 1944; Zeven y Zhukovsky, 1975). Se cree que la subfamilia Maloideae se originó mediante duplicación espontánea, por una hibridación entre dos especies primitivas de Rosaceae, pertenecientes a las subfamilias Prunoideae y Espiroideae, dando como resultado alopoliploides que funcionan sexualmente como diploides (Westwood, 1982; Hancock y Lobos, 2008).

El género *Pyrus* abarca más de veinte especies y se piensa que la introducción de *P. communis* en diversas partes de Europa pudo ocurrir en distintos períodos históricos, aunque algunos autores creen que tuvo lugar especialmente en la época romana, entre 2000 y 1000 a.C., en la que ya se conocían algunas variedades (Janick y Moore, 1975; Lombard, 1982; Aedo y Aldasoro, 1998).

En el género se reconocen 22 especies primarias, todas originarias de Asia y Europa (Bell et al., 1996) (Tabla 4). *P. pyraster* (B.), *P. spinosa* (Forssk.), *P. elaeagrifolia* (Pallas), *P. syriaca* (Boiss.), *P. x nivalis* (Jacq.) y *P. caucasica* (Fed.) se consideran las especies más importantes en el origen de las variedades de Europa Central (Aedo y Aldasoro, 1998; Moore y Ballington, 1992; Fisher y Weber, 2005; Fisher, 2009).

Tabla 4. Especies de *Pyrus* y su distribución [adaptado de Westwood (1982), Zeven y Zhukovsky (1975) y Bell et al. (1996)].

Especies	Distribución	Sinonimias
EUROPA		
<i>P. communis</i> L.	Del oeste hasta el sureste de Europa, Turquía, Eurasia	<i>P. asiae-mediae</i> Popov <i>P. balasae</i> Deene <i>P. boissieriana</i> Buhse <i>P. caucasica</i> Fed. <i>P. elata</i> Rubtzov <i>P. medvedvii</i> Rubtzov <i>P. bourganaena</i> <i>P. bourgaeana</i> Decne.
<i>P. x nivalis</i> (Jacq.)	Oeste, centro y sur de Europa	
<i>P. cordata</i> Dev.	Sudoeste de Inglaterra, oeste de Francia, España y Portugal	
ZONA MEDITERRÁNEA		
<i>P. amygdaliformis</i> Vill.	Europa mediterránea, Asia menor, sudeste de Europa, Rusia y Turquía	<i>P. sinaica</i> Dom. - Cours. <i>P. spinosa</i> Forssk.
<i>P. elaeagrifolia</i> Pall.	Túnez	<i>P. kotshyana</i> Boiss. Ex Decne
<i>P. syriaca</i> Boiss.f	Argelia	
<i>P. longipes</i> Coss y Dur.	Marruecos, oeste de Argelia	<i>P. cossonii</i> Redd
<i>P. gharbiana</i> Trab.	Marruecos	
ASIA CENTRAL		
<i>P. glaba</i> Boiss	Irán	
<i>P. salicifolia</i> Pall.	Noroeste de Irán, noroeste de Turquía, sur de Rusia	
<i>P. regelii</i> Rehd.	Centro-sur de Asia (Afganistán)	<i>P. heterophylla</i> Regal & Schmalh <i>P. kumaoni</i> Decne.
<i>P. korshinskyi</i> Litv.	Centro-sur de Asia (Afganistán)	<i>P. pyrastrer</i> Burgsd
<i>P. pashia</i> Buch.-Ham. D. Don.	Paquistán, India y Nepal	<i>P. variolosa</i> Wall. ex G. Don. <i>P. wilhelmii</i> C. Schneid
ESTE ASIÁTICO		
<i>P. pyrifolia</i> (Burm.) Nak.	China, Japón, Corea, Taiwán	<i>P. serotina</i> Rehd.
<i>P. pseudopashia</i> T.T. Yu	Noroeste de China (Yunnan, Kweichow)	<i>P. kumaoni</i> Decne.
<i>P. ussuriensis</i> Maxim.	Siberia, Manchuria, norte de China, Corea	<i>P. lindleyi</i> Rehd. <i>P. ovoidea</i> Rehd. <i>P. sinensis</i> Lindley
<i>P. calleryana</i> Decne	Centro-sur de China, Vietnam	
<i>P. betulifolia</i> Bunge	Centro-norte de China, sur de Manchuria	
<i>P. fauriei</i> Scheid	Corea	
<i>P. hondoensis</i> Kik & Nak.	Japón	
<i>P. dimorphophylla</i> Mak.	Japón	
<i>P. kawakunii</i> Hayata	Taiwán y sudeste de China	<i>P. koehnei</i> Schneid

reúne un grupo de formas extremadamente variables, donde se han pretendido distinguir, entre otras, las formas cultivadas, con peras más grandes y de sabor más dulce.

En España se pueden encontrar tres especies de peral distribuidas en todo el territorio, *P. spinosa*, *P. cordata* y *P. communis*. Aedo y Aldasoro (1998) también referencian la especie *P. bourgaeana* en la zona del oeste y centro de la Península Ibérica, aunque se trata de una especie muy similar a *P. communis*, de la que se diferencia por un menor tamaño de los pétalos.

P. spinosa se puede encontrar desde el noreste de la Península Ibérica hasta la Península Balcánica, y oeste de Anatolia (Aedo y Aldasoro, 1998). *P. cordata* está presente en toda España incluida Galicia, donde se denomina “escalambrós” (Otero Pedrayo, 1980), “estripio”, “estripi”, “estripi de injertos”, “estripi manso”, “estripeiro”, “perilloteiro manso”, “peruyal”, “perillotes”, “peras cagotes”, “perotes”, “perifollos”, “cagotes”, “perucho”, “espiño” (Aedo y Aldasoro, 1998), “periño” y “pereira brava” (García Martínez, 1991). Es un arbusto o árbol de hasta 15 m, sus frutos son demasiado pequeños para su consumo (0,1 a 3,0 g), aunque en algunas partes de España se han realizado selecciones con frutos más grandes. El “estripeiro” siempre fue muy apreciado como patrón rústico en Galicia (Aedo y Aldasoro, 1998).

P. communis se cultiva y se encuentra ocasionalmente asilvestrada en bordes de huertas y de caminos. Se puede encontrar por toda España y, dependiendo de la región, puede tener distintos nombres. En catalán se denomina “perer”, “perera” (pera el fruto); en vasco “madariondoa”, “udareondoa” (“madaria”, “txermena” o “udarea” el fruto); y en gallego “pereira”, “pereiro”, “pero”, “pireiro” (Aedo y Aldasoro, 1998).

En general, las especies silvestres de *Pyrus* se pueden encontrar en los bosques, montañas y planicies de España, sobre todo de Castilla, Aragón, Cataluña, Asturias y Galicia (Alonso de Herrera, 1818). Esta especie se puede encontrar en todo tipo de suelos, en orlas de abedular, hayedo, robledal, matorrales, orillas de huerta y de camino, o lugares despejados. De forma silvestre, solo consta que se encuentre en Álava, Gerona, Huesca y Palencia (Aedo y Aldasoro, 1998).

El peral europeo (*P. communis*) es un arbusto o árbol de hasta 10 m, de copa amplia e irregular, generalmente espinoso, con la corteza agrietada longitudinalmente y de color grisáceo. Las ramas son erectas, con lenticelas abundantes. Tiene hojas de orbiculares a

ovadas, acuminadas, de base por lo general truncada o cuneada, ciliadas y pelosas al brotar, después glabras. Su fruto tiene forma generalmente piriforme, de color pardo, con el cáliz persistente, el pedúnculo rígido, con semillas ovaladas, comprimidas y lisas (Figura 2). Por término medio vive unos 65 años (Maleyev, 1939; Brezhnev y Korovina, 1981; Aedo y Aldasoro, 1998).

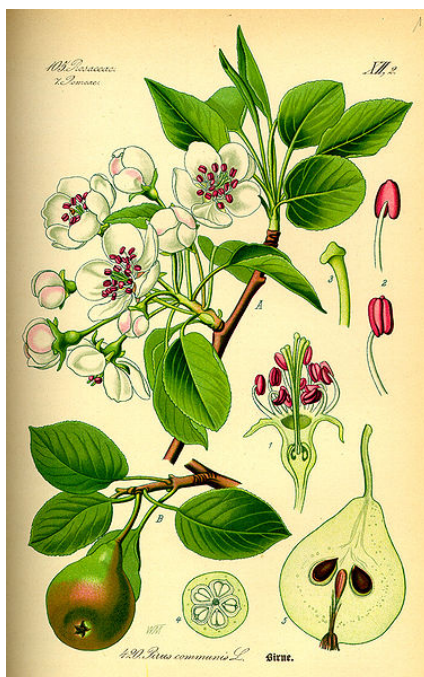


Figura 2. Peral (*Pyrus communis* L.) (Thomé, 1885-1905).

La mayoría de los cultivares de *Pyrus* son diploides, aunque hay variedades poliploides, especialmente en *P. communis* (Bell et al., 1996). Existen variedades triploides ($2n = 3x = 51$) y, con menos frecuencia, tetraploides ($2n = 4x = 68$). Las formas hexaploides existen pero no se comercializan ($2n = 6x = 102$) (Hancock y Lobos, 2008). Es una especie que se reproduce por fecundación cruzada, siendo poco frecuente la autofecundación. La polinización es entomófila, preferentemente llevada a cabo por los insectos pertenecientes a los órdenes de los Hymenoptera y Lepidóptera (Maleyev, 1939; Brezhnev y Korovina, 1981).

Las flores, hermafroditas, tienen de 2,5 a 3 cm de diámetro, formando inflorescencias de 5-8 flores, con 20 a 30 estambres, en algunos cultivares (Maleyev, 1939; Brezhnev y Korovina, 1981). Cada uno de los cinco carpelos contiene dos óvulos, pudiendo originarse

hasta diez semillas. Los pétalos pueden ser blancos o rosados, miden generalmente 12-15 mm y son obovados y libres (Leite y Souza, 2003).

El fruto es un pomo del tipo piriforme o casi esférico, verde-amarillo o amarillo, o rojo, con sépalos residuales (Maleyev, 1939; Brezhnev y Korovina, 1981). La pera es rica en diversas sales minerales como sodio, potasio, hierro, magnesio y calcio, y las vitaminas encontradas en el fruto son del tipo C y del complejo B (Rieger, 2006; Gil-Albert Velarde, 1995). La pulpa es de color blanco o crema, succulenta, de sabor dulce, amargo o astringente, con oscurecimiento en la madurez, y comestible. El fruto es utilizado para cocinar o para el consumo en fresco, además de ser utilizado en la medicina popular para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el intestino y el sistema urinario (Gil-Albert Velarde, 1995).

1.4 El cultivo del peral

Se cree que la pera europea se cultiva desde la edad de Bronce, siendo domesticada probablemente en las montañas del Cáucaso y Asia Menor (Vavilov, 1951). En Grecia, la pera europea ya era cultivada en el año 300 a.C. Los romanos, entre 235 y 150 a.C., ya describieron algunos métodos de cultivo y contribuyeron a su diseminación por el sur y el oeste de Europa, y también por el norte de África. Plinio, escritor y naturalista romano, en el siglo I, describió variedades de peras en Roma, recomendando su cultivo.

Huetz de Lemps (1967) cita a Florez (t. 40, Ap. XII, p. 364, vers 760) sobre la plantación de viñedos y frutales de pepita tras la reconquista de la ciudad de Lugo hacia el año 760 ("Nunc denique laboramus ibidem et aedificamus domum Dei et Ecclesiae Sanctae Mariae et praesimus loca Palatii et ipsam Civitatem restauramus eam intus et foris, et plantavimus vineis et pomiferis").

Las variedades modernas de pera fueron seleccionadas por los belgas, franceses e ingleses a partir de 1700. En España también se seleccionaron cultivares tan importantes como 'Blanquilla' o 'Castell' (Tabla 5). Posteriormente el cultivo fue introducido en América con la colonización (Layne y Quamme, 1975).

Tabla 5. Procedencia de los principales cultivares europeos de peral [adaptado de Brooks y Olmo (1997)].

Cultivar	Origen	Procedencia y fecha
Abbe Fetel (Abate Fetel)	Desconocido	Francia, 1876
Abugo	Desconocido	España, siglo XX
Beurre Alexander Lucas	Desconocido	Francia, 1871
Beurre Anjou	Desconocido	Francia, siglo XIX
Beurre Giffard	Desconocido	Francia, 1825
Beurre Hardy (Mantecosa Hardy)	Desconocido	Francia, 1820
Blanquilla (Agua de Aranjuez)	Desconocido	España, 1747
Butirra Precoce Morettini	Coscia × Bartlett	Italia, 1956
Castell	Desconocido	España, siglo XIX
Charles Ernest	Desconocido	Francia, 1879
Comice (Doyenné du Comice)	Desconocido	Francia, 1849
Concorde	Conference × Comice	Reino Unido, 1995
Condo	Conference × Comice	Holanda, 1974
Conference (Conferencia)	Leon LeClerc de Laval	Inglaterra, 1894
Coscia Precoce	Precoce di Cassano × Coscia	Italia
Cure	Desconocido	Francia, 1760
Delbard Exquise	Desconocido	Francia
Delbard Premiere	Akca × Dr. J. Guyot	Francia, 1975
Delbuena—Peradel	Passa Crassana	Francia, 1989
Délice Delbard—Delété	Desconocido	Francia
Director Hardy	Desconocido	Francia, 1893
Dr. Jules Guyot (Limonera)	Desconocido	Francia, 1871
Epine Du Mas	Desconocido	Francia, Desconocido
Etrusca	Coscia × Gentile	Italia, 1992
Fiorenza	Dr. Jules Guyot × Bartlett	Italia, 1974
General Leclerc	Comice	Francia, 1950
Harvest Queen	Michigan 572 × Bartlett	Canadá, 1982
Jeanne d'Arc	Butirra Diel × Comice	Francia, 1893
Louise Bonne d'Avranches	Desconocido	Francia, 1780
Magallon	Desconocido	España, siglo XX
Merton Pride	Glou Morceau × Bartlett (4x)	Reino Unido, 1959
Nouveau Poiteau	Van Mos	Francia, 1827
Passa Crassana (Passe Crassane)	Desconocido	Francia, 1855
Pierre Corneille	B. Diel × Comice	Francia, 1849
Precoce di Fiorano	B. Giffard × Coscia	Italia
Precoce di Trevoux	Desconocido	Francia, 1862
President Drouard	Beurre Napoleón	Francia, 1876
Rocha	Desconocido	Portugal, siglo XIX
Roma	Desconocido	Italia, Desconocido
Spadona Estiva	Desconocido	Italia, Desconocido
Spina Carpi	Desconocido	Italia, 1575
Tosca	Coscia × Bartlett	Italia, 1993
Triomphe de Vienne	Desconocido	Francia, 1874
Williams Bon Chretien (Bartlett)	Desconocido	Reino Unido, siglo XVIII

A partir de 1867 se habían catalogado más de 900 variedades de *P. communis* adaptadas a las más diversas regiones de Europa (Sauer, 1993; Mitcham y Elkins, 2007). Se han descrito un total de 5000 cultivares de peral (Monte-Corvo et al., 2001), pero solamente un pequeño porcentaje son cultivados comercialmente (Bell et al., 1996).

Las variedades de pera más consumidas en el mundo se pueden dividir en dos tipos: peras europeas (*Pyrus communis*) (Tabla 6) y peras asiáticas o nashis (*Pyrus pyrifolia* var. *Culta*, *Pyrus bretschneideri* y *Pyrus ussuriensis*). Cada uno de estos dos tipos presenta numerosas variedades comerciales (Simonetto y Grelmann, 1999; Faoro y Yasunobu, 2001).

Tabla 6. Producción de pera (x1000t) por variedad entre 1999 y 2010 en la Unión Europea (adaptado de WAPA - The world apple and pear association, 2011).

Variedad	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Abbe Fetel	23	242	225	281	251	261	283	328	324	248	305	223
Blanquilla	232	221	240	196	200	157	171	139	132	89	92	86
Conference	618	613	520	677	723	769	798	826	822	632	897	762
Ercollini	115	111	100	103	96	95	111	103	110	107	106	98
Comice	107	131	68	162	97	129	105	135	126	82	116	90
Durondeau	9	11	3	11	6	10	7	9	7	6	8	7
Dr. Jules Guyot	134	106	119	117	99	106	115	109	105	98	102	95
Kaiser	51	51	50	59	63	50	61	61	59	39	65	34
Passe Crassane	49	28	26	43	33	37	35	29	25	21	19	15
Rocha	126	136	136	120	86	180	125	168	136	168	197	171
William Bon Chretien	258	321	316	330	286	314	321	350	320	307	309	278
Otras	490	573	460	426	379	425	403	407	350	364	379	325
Total	2214	2544	2263	2525	2319	2532	2535	2664	2516	2160	2596	2185

En un registro de principios del siglo XIX, las variedades más comunes de peral cultivadas en España eran ‘Donguindo’, ‘Buen Cristiano’, ‘Bergamotas’ (de verano, otoño e invierno), ‘Mostilleras’ y ‘Carbajales’, ‘Lanas Tempranas’ o ‘de San Juan’, ‘Manteca’, ‘de Holanda’, ‘de Inglaterra’, ‘De Oro’, ‘De Blanca’, ‘De Alejandría’, ‘Verdilarga’, ‘Verdenal’, ‘Urraca’, ‘de Sancho’, ‘Santiago’, ‘Mala Cara’, ‘Crasana’, ‘Muslo de Dama’, ‘Luisabona’, ‘Virgulosa’, ‘Colmart Angélica’, ‘Vertalonga’, ‘Cermeña’ y ‘Naranja’ (Alonso de Herrera, 1818).

La producción española, con el paso de los años, se redujo a pocas variedades seleccionadas entre los siglos XVIII y XIX (Tabla 7), como ‘Abbe Fetel’, ‘Williams’, ‘Beurre Anjou’, ‘Beurre Bosc’, ‘Doyenné du Comice’, ‘Conference’, ‘Dr. Jules Guyot’, y ‘Passe Crassane’ (Wünsch y Hormaza, 2007). La única variedad española con importancia en la producción es ‘Blanquilla’.

Tabla 7. Producción de pera (x1000t) por variedad entre 1999 y 2007 en España (adaptado de WAPA - The world apple and pear association, 2011).

Variedad	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Blanquilla	232	221	240	196	200	157	171	139	132
Conference	159	144	190	183	214	165	208	187	163
Ercollini	60	54	50	50	45	39	46	40	44
Dr. Jules Guyot	56	41	45	46	47	41	50	47	46
Passe Crassane	4	3	3	3	3	3	4	3	2
William Bon Chretien	4	34	47	42	48	38	47	47	40
Otras	143	100	86	82	84	77	83	73	68
Total	658	597	661	602	641	520	609	536	495

Las referencias más antiguas sobre los cultivares de peral en Galicia las realiza el padre Sarmiento entre 1746 y 1755 (Sarmiento, 1986), algunos de cuyos nombres aparecen en la colección del CIAM: ‘Peras da libra’, ‘D^a. Urraca de Vera’, ‘Bergamotas de verano’, ‘Bergamotas de invierno’, ‘Don Guindo verano’ y ‘Don Guindo invierno’.

Sobre el cultivo del peral en Galicia, la referencia más completa es el estudio “Cartografía de Frutales” de Herrero (1964), quien realizó una descripción de las variedades a partir de una prospección en las cuatro provincias gallegas, consultando a técnicos, viveristas, comerciantes y fruticultores sobre la estructura varietal (Tabla 8).

Tabla 8. Variedades de pera encontradas en Galicia (Herrero, 1964).

Provincias	Cultivares	Total
Lugo	De Cura ¹ , de Inverno ² , Donguindo ² , Ercolini, Favorita de Clapp, Dr. Jules Guyot ¹ , Manteca Clairgeau ¹ , Max Red Bartlett ¹ , Roma ¹ y Urraca ²	10
A Coruña	André Desportes, Buena Luisa de Avranches ¹ , Condesa de París, Consejero de la Corte, de Cura ¹ , Donguindo ² , Duquesa de Angulema, La Lactier, Mantecosa de la Asunción, Mantecosa Clairgeau ¹ , Mantecosa Giffard ¹ , Mantecosa Hardy ^{1,2} , Mantecosa Lebrun, Margarita Marillat, Max Red Bartlett ¹ , Roma ² , Urraca ² , Urraca Blanca ² , Urraca de Galicia y Williams ^{1,2}	20
Ourense	Agua de Aranjuez (Blanquilla) ² , Azúcar Verde, Bergamota ² , Esperan, Bergamota de Otoño, Bergamota de Verano, Buena Luisa de Avranches ¹ , Castel ² , Cristalina de Verano, de Cura ¹ , Doguindo ² , Duquesa Angulema, Leonardeta, de Limón ² , Mantecosa Aremberg ¹ , Mantecosa Asunción, Mantecosa Hardy ^{1,2} , Muslo de Dama, Roma ^{1,2} , San Antonio, Tendral de Valencia y Ternal	22
Pontevedra	Agua de Verano, André Desportes, Bella Angevina, Bergamota de Verano, Buena Luisa de Avranches ¹ , Castel ² , Contron des Carmes, de Cura ¹ , Donguindo, Duquesa de Angulema, Dr. Jules Guyot ¹ , Malacara, Mantecosa Amalis, Mantecosa Campiamont, Mantecosa Clairgeau ¹ , Mantecosa Giffard ¹ , Mantecosa Hardy ^{1,2} , Margarita Marilleta, Passe Crasane ^{1,2} , Urraca ² , Urraca Blanca ² , Urraca Francesa, Urraca de Inverno, Urraca Verano, Urraca de Galicia, Presidente Roosevelt, Roma ^{1,2} , Sidería de Verano, Tendral de Valencia, Triunfo de Viena y Williams ^{1,2}	32

¹ Variedades extranjeras; ² Variedades presentes en el Banco de Germoplasma del CIAM.

1.5 Origen de los cultivares

La domesticación es definida por Gepts (2004) como “el resultado de un proceso de selección que conduce a una mayor adaptación de las plantas y los animales al cultivo y cría”. La sustitución de la multiplicación sexual por métodos de propagación asexual fue una de las características más importantes en la evolución de los cultivos, especialmente en las especies arbóreas para la producción frutal. La propagación clonal da lugar a una reducción de la heterogeneidad ambiental, pero también es una estrategia que mantiene los genotipos más aptos dentro de una población (Forneck, 2005). En un estudio del castaño cultivado con microsatélites en España y Portugal (Pereira-Lorenzo et al., 2011) estimaron una clonalidad

media del 33% debida al injerto, variando del 9% en La Palma (Islas Canarias) al 100% en la isla Terceira (Azores).

La información sobre el primer cultivo de peral comienza en China hace 2000 años, pero los tipos primitivos se cultivaron sin duda anteriormente. En el período babilónico y persa hay registros del consumo de peras, lo que promovió este hábito también en Asia y Europa por las rutas de comercio. Hace casi 1000 años ya se conocían variedades de peral en Europa. Bélgica, Francia e Italia fueron los principales centros europeos de cultivo de pera en la Edad Media, donde se encuentran las más antiguas descripciones de las variedades de pera (Janick, 2002; Fisher, 2009).

Las variedades modernas han evolucionado a partir del peral europeo (*P. communis*) y del peral asiático (*P. pyrifolia*). En Europa, entre los siglos XVI y XIX hubo una gran expansión del cultivo del peral, sobre todo en Francia y Bélgica. Sin embargo, la mejora basada en caracteres para la obtención de cultivares con características específicas, comenzó a principios del siglo XX en Bélgica, Francia, EE.UU. y Alemania. Hoy se conocen más de 1000 variedades de peral. Existen programas activos para la obtención de nuevas variedades en Canadá, EE.UU., Francia, Italia, República Checa, Rumania, Alemania, Japón, China y Corea, tanto en instituciones científicas públicas como privadas. Entre las actividades de mejora, se pueden destacar los cruzamientos entre variedades asiáticas y europeas realizados en China, EE.UU. y Suiza (Fisher y Weber, 2005). Las variedades comerciales de peral como ‘Abbe Fetel’, ‘Blanquilla’, ‘Doyenné du Comice’, ‘Doctor Jules Guyot’, ‘Passe Crassane’, producen peras que destacan por poseer un aroma y textura suave, pulpa tierna pero firme, sabor dulce, y una cantidad significativa de jugo. ‘Williams’, ‘Max Red Bartlett’ y ‘Conference’ también presentan las características anteriormente descritas; sin embargo, presentan la particularidad de presentar abundante jugo. ‘Passe Crassane’ destaca por ser crujiente. Por otra parte, ‘General Leclerc’ presenta una textura áspera, pero tierna, granulada y fina. ‘Doyenné du Comice’, dentro de las variedades comerciales, es considerada como la más dulce y jugosa de todas las peras. ‘Conference’ destaca por su excelente calidad gustativa (Hedrick, 1922; Vaughan y Geissler, 2009).

Aunque existen un gran número de variedades, muchas de ellas son deficientes en la producción, en la calidad de la fruta o en su capacidad de almacenamiento. De manera general, las plantaciones comerciales suelen utilizar muy pocos clones y muy productivos. La producción mundial de *P. communis* depende de relativamente pocos cultivares. ‘Williams’ es

el cultivar más importante en muchos países, seguido de ‘Beurre Bosc’, ‘Conference’, ‘Passe Crassane’ y ‘Doyenné du Comice’. Los cultivares asiáticos más importantes son ‘Ya Li, Bartlett’ y ‘Tsu Li’ en China (FAO, 2004); y ‘Nijisseiki’, ‘Kosui’, ‘Chorujō’ y ‘Hosui’ en Japón (Fisher y Weber, 2005; Fisher, 2009).

El mecanismo fundamental en la diversificación de cultivares es la hibridación. Los microsatélites han permitido demostrar que la hibridación es un mecanismo muy importante en el origen de los cultivares, como en vid (Moncada et al., 2006; Díaz-Losada et al., 2010), el avellano (Boccacci et al., 2006), y el castaño (Pereira-Lorenzo et al., 2011), debido a cruzamientos espontáneos entre cultivares foráneos (Milla Tapia et al., 2007) y a cruzamientos entre variedades ancestrales (Cunha et al., 2007). En un estudio mediante microsatélites se pudo demostrar la relación directa por hibridación entre un 36% de los genotipos en castaño (Pereira-Lorenzo et al., 2011). Las relaciones de hibridación también han dado lugar a linajes en la vid (Díaz-Losada et al., 2010), mediante la selección por parte de los agricultores de genotipos a partir de semilla de parentales de reconocida calidad y propagados vegetativamente después.

Uno de los mecanismos que explican la aparición de nuevos cultivares es la mutación, demostrado con microsatélites en castaño (Pereira-Lorenzo et al., 2011), en vid (Hocquigny et al., 2004) y en peral (Yamamoto y Chevreau, 2009). La mutación ha dado lugar a quimeras del cultivar ‘Pinot’ (Hocquigny et al., 2004), lo que contribuyó a la variabilidad intracultivar.

Otro mecanismo de diversificación descrito en manzano por Einset (1952) es la formación de triploides de forma espontánea a partir de la hibridación de un gameto no reducido combinado con un gameto haploide de otro cultivar. Este fenómeno explica que ‘Belle de Boskoop’ podría haber derivado de un gameto no reducido de ‘Reineta de Caux’ combinado con un gameto haploide de otro cultivar (Ramos-Cabrer et al., 2007). ‘Reineta de Caux’ se descubrió por primera vez en el siglo XVIII en los Países Bajos, y ‘Belle de Boskoop’ en 1856 (<http://1000pom.free.fr/>).

1.6 Recursos fitogenéticos de peral

Los recursos genéticos en sistemas agrícolas son de gran importancia tanto para la seguridad alimentaria actual como para las futuras generaciones, ya que éstos pueden ser considerados como fundamentales para el desarrollo del planeta (Dhillon et al., 2004). Los

recursos genéticos son importantes en la mejora genética ya que permiten incorporar características específicas sin tener que recurrir a las poblaciones silvestres (Velho y Velho, 2001).

Se pueden distinguir dos estrategias principales de conservación: la conservación *in situ*, donde una población es mantenida en su hábitat natural o agrícola, o la conservación *ex situ*, donde es mantenida fuera de este hábitat. La conservación *ex situ* puede incluir individuos vivos, tejidos o material genético de los individuos. En un Banco genético tipo *ex situ*, es posible almacenar accesiones de germoplasma de origen vegetal o animal (FAO, 1998, 2005).

Para que haya una mayor utilización del germoplasma conservado, es de fundamental importancia el conocimiento y la organización de la variabilidad genética existente. La falta de información sobre las accesiones mantenidas en Bancos de Germoplasma, o incluso la consideración de que tal información, cuando está disponible, es inadecuada o insuficiente para el mejorador, es una de las principales razones que está limitando el uso del germoplasma conservado (Valls, 2007).

En España, el INIA (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria) coordina el programa para la conservación y utilización de los recursos genéticos vegetales, sin embargo la gestión de estos recursos genéticos es descentralizada (Lateur et al., 2002). La colección española presenta un total de 444 accesiones de cultivares de peral. Entre los recursos genéticos de peral en España se encuentra la colección del CIAM (Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo), no referenciada todavía por la falta de información disponible hasta el momento, con un total de 221 accesiones (Tabla 9).

Tabla 9. Composición de las colecciones de peras españolas (modificado de Lateur et al., 2002).

Institución	Nº de accesiones	Tipo de material
Banco de Germoplasma de frutales del SIA (Servicio de Investigación Agroalimentaria) de Aragón	148	71 cultivares españoles recolectados entre 2000 y 2001
Colección de la Universidad de Lleida	75	
Colección del CIAM (Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo)	221	Recolectados entre 1978 y 1981
Total	444	

1.7 Los marcadores moleculares microsatélites (SSRs)

Los primeros marcadores genéticos descritos fueron los marcadores morfológicos, que se basan en diferencias fenotípicas debidas a genes con efectos mayores y que presentan herencia simple y expresión estable en diferentes ambientes (Nuez y Carrillo, 2000). Estos métodos tradicionales de identificación y clasificación de cultivares, así como los basados en caracteres agronómicos, son los únicos reconocidos legalmente aún en la actualidad [Bailey, 1983; Reglamento (CE) N° 2100/94 del Consejo de 27 de julio de 1994, relativo a la protección comunitaria de las obtenciones vegetales (D.O.C.O., 1994)].

Sin embargo, estos marcadores no cumplían muchas de las características deseables anteriormente descritas. Posteriormente se desarrollaron los marcadores moleculares. Los primeros marcadores utilizados fueron los isoenzimas, que no están influidos por los factores ambientales (Torres, 1989) y se pueden separar por electroforesis debido a que sus variantes pueden presentar diferente carga eléctrica. Las principales limitaciones de los isoenzimas son su reducido número y que son poco polimórficos (Karp et al., 1997).

Actualmente, ya están desarrollados marcadores moleculares basados en el polimorfismo de las secuencias de ADN, y se ha desarrollado una nueva generación de descriptores. Estos presentan ventajas respecto a los marcadores bioquímicos y morfológicos, entre las que se incluyen su número prácticamente ilimitado, su distribución homogénea en el genoma y su independencia de las condiciones ambientales. Entre los más populares se encuentran los RFLPs ('Restriction Fragment Length Polymorphism'), los RAPDs ('Random Amplified Polymorphic DNA'), los AFLPs ('Amplified Fragment Length Polymorphism'), los SSRs ('Simple Sequence Repeats'), los ISSRs ('Inter-Simple Sequence Repeats'), los CAPS ('Cleaved Amplified Polymorphic Sequence') y los SNPs ('Single Nucleotide Polymorphism') (Konieczny y Ausybel, 1993; Sunnucks, 2000; Morin et al., 2004).

Un tipo de marcador molecular que destaca por su utilidad en los estudios de la diversidad genética son los microsatélites (SSRs). Se trata de variaciones o mutaciones de secuencias muy cortas de ADN [de 1 a 10 pares de bases (pb), lo más habitual 2-3 pb], que se repiten en tándem y de forma aleatoria en el genoma de los seres vivos. Estas regiones del genoma no son codificantes, y su origen y función no están claros. Al no tratarse de regiones codificantes, las mutaciones se conservan, por lo que los microsatélites son más polimórficos que otros marcadores moleculares. Otra singularidad es que están flanqueados por secuencias

específicas que actúan como iniciadores ('primers') y permiten amplificar, específicamente, un determinado microsatélite del genoma en distintos individuos de una misma especie (Li et al., 2002; Toth et al., 2000; Ellegren, 2004).

Para que un microsatélite sea considerado útil como marcador molecular, toda la variación de la secuencia, o polimorfismo debe hallarse dentro del motivo repetitivo y, por el contrario, las regiones flanqueantes deben estar altamente conservadas, hasta el punto de no presentar ninguna variación de secuencia. Las diferencias entre individuos de una misma especie consisten en variaciones en el número de repeticiones de la misma secuencia (Viard et al., 1998; Adams et al., 2004; Curtu et al., 2004).

El origen de tal polimorfismo puede deberse a un deslizamiento en la replicación del ADN en el cual una cadena, ya sea la nueva o la cadena patrón, se desliza sobre la otra en al menos una unidad de repetición. Otras posibles causas de generación de polimorfismos se deben a otros tipos de mutaciones, como son las deleciones e inserciones, que también alterarán el tamaño del microsatélite (Zane et al., 2002).

Los microsatélites son una poderosa herramienta para el estudio genético de poblaciones, ya que son muy polimórficos, presentan herencia mendeliana simple, son relativamente fáciles de medir y analizar, y son cien por cien fiables, repetitivos y automatizables. Presentan grandes ventajas sobre otros marcadores moleculares, ya que son abundantes en los genomas y, normalmente, están distribuidos uniformemente, son muy variables y codominantes (Ferreira y Grattapaglia, 1996).

Como la técnica se basa en la PCR ('Polymerase Chain Reaction'), se requiere poca cantidad de ADN para la amplificación. Además, en un espacio corto de tiempo, se genera un elevado número de copias de la secuencia de ADN objeto de estudio, lo que permite utilizar técnicas de visualización más sencillas que en otros métodos utilizados tradicionalmente, como puede ser el uso de sondas marcadas radioactivamente. Por otro lado, permite la determinación y agrupación alélica en clases discretas, lo que facilita la elaboración de bases de datos, al ser la estandarización inmediata y posibilitar la aplicación de métodos bioestadísticos y programas elaborados. Cada locus está definido por un par de iniciadores, por lo que la información puede ser intercambiada entre laboratorios fácilmente (Glenn y Schable, 2005).

Los mayores problemas son que necesitan geles de alta resolución para explotar toda la información contenida, y un gran esfuerzo inicial para clonar y secuenciar los iniciadores

(Glenn y Schable, 2005). Además, si ocurren mutaciones en las zonas de apareamiento de los iniciadores tendrían como resultado alelos nulos. Otra limitación es la presencia de bandas tartamudas (productos de la amplificación por PCR que difieren en una unidad de repetición con respecto a la longitud del alelo original). Estas bandas tartamudas dificultan la lectura de los geles y podrían ser confundidas con alelos, complicando el análisis genotípico. Además, algunos factores pueden disminuir el poder y la sensibilidad de los microsatélites como marcadores, o pueden ser fuentes de error que disminuyan su utilidad en los estudios genéticos. Entre estos factores destacan los alelos nulos y la homoplasia (Eisen, 1999).

El uso de marcadores multialélicos y codominantes, como los SSRs, permiten la identificación de individuos similares morfológicamente, son eficientes para caracterizar la diversidad de colecciones de especies *in situ* y *ex situ*, y en la construcción de mapas genéticos (Ford-Lloyd, 2005).

Los marcadores SSRs están siendo utilizados para identificar y caracterizar diferentes especies de frutales del género *Prunus* (Martínez-Gómez et al., 2005), ciruelo y melocotonero (Sosinski et al., 2000; Bianchi et al., 2002; Etienne et al., 2002; Fachinello et al., 2005), almendro (Joobeur et al., 2000), manzano (Pereira-Lorenzo et al., 2003, 2007, 2008; Ramos-Cabrer et al., 2007), castaño (Pereira-Lorenzo et al., 2010, 2011) y vid (Martín et al., 2003; Díaz-Losada et al., 2010).

En peral se han obtenido pocos SSRs específicos, porque la producción de iniciadores de microsatélites es trabajosa y costosa (Fernández-Fernández et al., 2006). En esta especie se cuenta con la posibilidad de utilizar iniciadores diseñados para plantas de taxones relacionados. La transferibilidad se entiende como la capacidad que tienen los iniciadores desarrollados para una especie de amplificar también segmentos de ADN en otras especies (Plieske y Struss, 2001; Ellis y Burke, 2007; Gao et al., 2005). Para el género *Pyrus* ya existen varios estudios utilizando marcadores moleculares con el fin de diferenciar los diferentes genotipos y para establecer las relaciones genéticas entre especies y variedades de peral, utilizando SSRs desarrollados para el manzano (Yamamoto et al., 2001, 2002a, b y c; Kimura et al., 2002; Bassil et al., 2005; Volk et al., 2006; Šiško y Javornik, 2007; Wünsch y Hormaza, 2007; Xuan, 2008; Brini et al., 2008; Evans et al., 2009). Muchos de los loci microsatélites utilizados presentan un alto grado de sintenia entre el manzano y el peral (Pierantoni et al., 2004; Volk et al., 2006).

La buena transferibilidad de los marcadores SSRs del manzano en peral permitió la realización del mapa genético de esta última especie (Hayashi y Yamamoto, 2002; Hemmat et al., 2003; Katayama y Uematsu, 2003; Pierantoni et al., 2004; Yamamoto et al., 2001). Los mapas de ligamiento genético del peral tienen gran valor para los programas de mejora, así como para los estudios de diversidad (Yamamoto et al., 2002a).

1.8 Análisis de la variabilidad genética

La diversidad o variabilidad genética se debe a variaciones en la secuencia del genoma; por lo tanto, en un sentido amplio el concepto variabilidad se hace sinónimo de polimorfismo o, más concretamente, polimorfismo genético, cromosómico, de secuencia o de DNA. Todo polimorfismo es, pues, reflejo del genotipo de los individuos (constitución alélica para un locus determinado o para un conjunto de ellos) (Luque Cabrera y Herráez, 2001). La variabilidad genética se puede clasificar, dependiendo del estudio, desde varios puntos de vista, lo que permite su evaluación por medio de varios tipos de análisis.

Frecuencias alélicas

La importancia relativa de un alelo específico respecto a un determinado locus en un grupo de genotipos o en una población se puede expresar como la frecuencia alélica (Stickberger, 1985). Existen varios programas estadísticos para el cálculo de las frecuencias alélicas como SPAGeDI 1.1 (Hardy y Vekemans, 2002), Arlequin ver 3.1 (Excofier et al., 2005) y Genodive (Meirmans y Van Tienderen, 2004).

Alelos nulos y errores de genotipado

Las bajas concentraciones de ADN y las mutaciones del iniciador pueden conllevar una anotación incorrecta del genotipado. Los alelos nulos son alelos no amplificados que dan como resultado un homocigoto aparente, es decir, los posibles heterocigotos se observan como homocigotos. En los microsatélites, los alelos nulos son frecuentes y pueden surgir cuando se producen mutaciones en las regiones de flaqueo (McGoldrick et al., 2000; Pemberton et al., 1995; Jones et al., 1998; Holm et al., 2001). Otro error de genotipado se debe a la dominancia de alelos cortos motivada por artefactos en la PCR y a la presencia de las bandas tartamudas. Todos estos errores pueden causar desviaciones del equilibrio de

Hardy-Weinberg pudiendo sesgar, tanto espacial como temporalmente, los análisis genéticos de poblaciones.

Existen programas como Micro-Checker ver. 2.2.3 (Van Oosterhout et al., 2004), que permite comprobar la presencia y estimar la frecuencia de alelos nulos cuando estos están presentes. Micro-Checker estima la frecuencia de alelos nulos en un locus utilizando una serie de algoritmos descritos por Chakraborty et al. (1992) y Brookfield (1996).

Heterocigosidad

Si un individuo tiene dos versiones diferentes de un gen en particular, el individuo es heterocigoto para el gen considerado; si los dos alelos son iguales, el individuo es homocigoto. La heterocigosidad puede ser calculada por medio de dos variables:

1. La heterocigosidad observada (H_o) es la relación entre los individuos heterocigotos y el número total de genotipos por locus.
2. La heterocigosidad esperada (H_e) o diversidad génica (Nei, 1978) es definida como la fracción estimada de todos los individuos que son heterocigotos para cualquier locus elegido al azar y se puede calcular según la fórmula:

$$H_e = 1 - \left(\sum_{i=1}^1 p_i^2 \right)$$

donde p_i es la frecuencia del alelo i -ésimo en el locus estudiado.

La presencia de nuevos alelos en una población es un proceso aleatorio de la mutación, deriva genética y selección. La heterocigosidad de un grupo de genotipos se pueden utilizar como un indicador general de la diversidad y las desviaciones tanto de la H_o como de la H_e pueden ser utilizadas como un indicador de la dinámica de una población (Nei, 1973; Weir, 1996).

Los estadísticos F de Wright

Wright (1965) ha propuesto los índices de fijación o estadísticos F , donde se estiman la pérdida de heterocigosis y considera tres niveles jerárquicos en una población subdividida:

organismos individuales (I), subpoblaciones (S), y la población total (T). Por tanto tendríamos:

H_I = heterocigosidad observada media en las subpoblaciones, considerando k subpoblaciones:

$$H_I = \sum_{i=1}^k \frac{H_i}{k}$$

H_S = heterocigosidad media que esperaríamos en las subpoblaciones k donde ocurre cruzamiento aleatorio bajo equilibrio Hardy-Weinberg; $p_{i,s}$ es la frecuencia del alelo i en la subpoblación s :

$$H_S = 1 - \sum_{i=1}^k p_{i,s}^2$$

H_T = heterocigosidad que se esperaría si todas las subpoblaciones se agrupasen y se produjera un cruzamiento aleatorio, p_i^2 es la frecuencia media del alelo i en la población total:

$$H_T = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$$

Basado en la heterocigosis (H_I , H_S y H_T) Wright (1965) diferencia tres estadísticos F : F_{IS} , F_{ST} , F_{IT} .

El F_{IS} (coeficiente de endogamia) estima la reducción en la heterocigosidad de un individuo debido al cruzamiento no aleatorio dentro de su subpoblación. Expresado en otros términos, F_{IS} mide la división intrapoblacional o coeficiente de coancestría.

$$F_{IS} = (H_S - H_I) / H_S$$

El F_{ST} (índice de fijación) estima la reducción de la heterocigosidad de una subpoblación debido al efecto combinado de la migración y la deriva genética; es decir, mide el grado de diferenciación genética entre las poblaciones.

$$F_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$$

Weir y Cockerham (1984) propusieron una interpretación del coeficiente F_{ST} , de manera que si $0,00 < F_{ST} \leq 0,10$ no existe diferenciación entre poblaciones; si $0,10 < F_{ST} \leq 0,15$, la diferenciación es débil; si $0,15 < F_{ST} \leq 0,20$, existe una fuerte diferenciación; y si $F_{ST} > 0,20$, la diferenciación es elevada.

El F_{IT} (coeficiente de endogamia total) estima las contribuciones del cruzamiento no aleatorio dentro de subpoblaciones y las debidas a la subdivisión propiamente dicha; en otras palabras, F_{IT} mide la endogamia total.

$$F_{IT} = (H_T - H_I) / H_T$$

Los tres estadísticos F se relacionan por medio de la fórmula:

$$(1 - F_{IT}) = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$$

Los estadísticos F de Wright pueden ser estimados mediante programas informáticos como Genodive (Meirmans y Van Tienderen, 2004), Genetix 4.05 (Belkhir et al., 1996-2004), o Arlequín (Excoffier et al., 2005).

Análisis de estructura

El software STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) estima las estructuras mediante un algoritmo Bayesiano que trata de agrupar probabilísticamente a un conjunto de individuos en distintas poblaciones. Para ello, utiliza datos genotípicos de marcadores moleculares no ligados o débilmente ligados, como pueden ser SSRs, RFLPs y SNPs. Se asume además, que los marcadores están en equilibrio de ligamiento dentro de estas poblaciones.

Se supone que un conjunto de individuos pueden estar agrupados en un número variable de poblaciones K , cada una de las cuales se caracterizaría por presentar un determinado conjunto de frecuencias alélicas para los alelos de cada locus.

Se utiliza la Cadena de Markov Monte Carlo (MCMC) con unos 1000000 pasos (Breton et al., 2006; Pereira-Lorenzo et al., 2010, 2011), con 30000 pasos previos de desmemorización, pasos previos que se efectúan antes de empezar a comparar las probabilidades de las tablas alternativas con la de la observada, y son necesarios porque la cadena de Markov comienza precisamente en la tabla observada. Unos pocos miles de pasos son suficientes para alcanzar un punto de comienzo aleatorio que corresponda a una tabla independiente de la observada.

En los modelos de mezcla se permite la presencia en una determinada población de individuos con cierto grado de mezcla genética procedente de grupos vecinos. El modelo de las frecuencias correlacionadas citado en Falush et al. (2003) asume que el total de

poblaciones representadas en la colección de partida proceden de una hipotética población “ancestral” (RPP, “Reconstructed Panmictic Population”) a partir de la cual han derivado las demás poblaciones, de modo que las frecuencias alélicas de las diferentes poblaciones presentan cierto parecido entre sí. Este modelo, cuando se emplea un número adecuado de marcadores, permite agrupar con exactitud a individuos procedentes de poblaciones estrechamente relacionadas.

La asignación de un cultivar a una RPP viene determinada por una proporción de ancestría (qI) del 80% (Breton et al., 2006; Pereira-Lorenzo et al., 2008, 2010, 2011), mientras que una proporción inferior indicaría que un individuo podría proceder de la hibridación entre parentales de diferentes RPPs. El programa estima el número más probable de grupos (K) mediante el cálculo del valor logarítmico de la probabilidad de los datos obtenidos, $\ln Pr(X/k)$; siendo \ln , el logaritmo neperiano; Pr , la probabilidad de distribución; X , la matriz con los datos de los genotipos; y k , el número de poblaciones reconstruidas o RPPs.

Según Evanno et al. (2005), para determinar el mejor valor de K se debe calcular el cambio de segundo orden (ΔK) del valor logarítmico de la probabilidad de los datos obtenidos, $\ln Pr(X/k)$, entre sucesivos valores de K . En un trabajo sobre diversidad ecológica en sorgo, Barnaud et al. (2007) explican el proceso de selección del valor de K , que no siempre es directo porque el programa STRUCTURE asume el equilibrio Hardy-Weinberg dentro de los clusters, lo que podría dar lugar a una sobreestimación del número de clusters según Pritchard et al. (2000). El mayor valor de la probabilidad se obtuvo para $K=2$ y en segundo lugar para $K=6$. El mayor número de muestras que pertenecieron a alguna RPP con un $qI > 92\%$ se obtuvo para $K=3$, pero se mantuvo elevado ($>80\%$) hasta $K=6$. Los grupos obtenidos para $K=6$ cambiaron completamente con respecto a aquellos obtenidos para $K=2$ a 4. Además, para $K=5$ y $K=6$, los autores no encontraron bases biológicas para los grupos definidos. Para $K=2$ se separó uno de los grupos raciales más importantes del estudio, para $K=3$ se separaron dos razas más y para $K=4$ se identificaron cuatro grupos con características funcionales y ecológicas distintas.

En cultivares de castaño en España se encontraron dos zonas claramente diferenciadas para el mayor valor de probabilidad cuando $K=2$, una en el norte peninsular y otra en el centro (Pereira-Lorenzo et al., 2011). Utilizando el criterio de Evanno et al. (2005) para determinar el mejor valor de K , se calculó el cambio de segundo orden (ΔK) del valor logarítmico de la

probabilidad de los datos obtenidos, $\ln \Pr(X/k)$, entre sucesivos valores de K , siendo este cambio de segundo orden para $K=10$. Esta subestructura correspondió a los 10 principales grupos de cultivares de castaño de la Península Ibérica, determinando la importancia de 10 cultivares que dieron lugar a otros por hibridación y mutación, y fijados posteriormente por injerto.

Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA)

El análisis Molecular de la Varianza (AMOVA) es un método de estimación de la diferenciación entre poblaciones a partir de datos moleculares. El AMOVA ha sido utilizado previamente para determinar el porcentaje de la varianza debido al origen geográfico de las muestras (Pereira-Lorenzo et al., 2010), pero también el porcentaje de variación entre poblaciones reconstruidas (Barnaud et al., 2007; Pereira-Lorenzo et al., 2011).

El AMOVA permite calcular, además de los componentes de la varianza, el estadístico F_{ST} , considerando la identidad de alelos bajo el modelo de alelos infinitos (IAM), y el estadístico R_{ST} , a partir de los tamaños alélicos bajo un modelo gradual de mutación (SMM). Esta medida de distancia adaptada para microsatélites R_{ST} , análoga al F_{ST} de Wright (1965) (Rousset, 1997; Balloux y Goudet, 2002), fue propuesta por Slatkin (1995):

$$R_{ST} = \frac{S_{bar} - S_w}{S_{bar}},$$

en la que S_w es la suma sobre todos los loci de dos veces el peso medio de la varianza dentro de poblaciones $V(A)$ y $V(B)$, y S_{bar} es la suma sobre todos los loci de dos veces la varianza de las poblaciones combinadas $V(A+B)$.

Los R-estadísticos son equivalentes a los F-estadísticos, pero sobre la base de tamaños de los alelos en lugar de la identidad del alelo (Slatkin, 1995; Rousset, 1997). Se pueden definir como los coeficientes de correlación intra clase de los tamaños de los alelos de los genes dentro de los individuos en relación con todas las poblaciones (R_{IT}), los genes dentro de los individuos en relación con una población (R_{IS}), y los genes en las poblaciones con respecto a todas las poblaciones (R_{ST}). Fueron desarrollados para los loci en un proceso gradual de mutación. En virtud de un proceso de mutación al azar (IAM, KAM), las expectativas para los R-estadísticos son equivalentes a los correspondientes F-estadísticos, pero sufren mayores variaciones de muestreo (Balloux y Goudet, 2002).

En un estudio en castaño, los valores R_{ST} fueron superiores a los F_{ST} , indicando que la diferenciación genética encontrada entre el norte y centro peninsular es lo suficientemente antigua como para producir mutaciones específicas (Pereira-Lorenzo et al., 2010).

Cálculo de las distancias genéticas

Cuando dos o más poblaciones están aisladas genéticamente, los procesos de mutación y deriva genética tienden a una diferenciación de las frecuencias alélicas de los loci neutros, diferenciación que es mayor a medida que pasa el tiempo, esta diferenciación puede ser estimada, además de asignar individuos más próximos. De manera general, las bajas distancias pueden ser indicativas de la existencia de subpoblaciones en las cuales hay cruzamiento aleatorio y entre las que hay una cantidad pequeña de flujo génico, o simplemente porque a pesar de que están separadas, ha pasado un período de tiempo muy breve desde que divergieron.

Distintas herramientas han sido desarrolladas para determinar la distancia genética. De acuerdo a la naturaleza mutacional del marcador empleado se han diseñado diferentes estimadores, como por ejemplo, la distancia genética estándar de Nei (1978) (\hat{D}) que se calcula aplicando la fórmula:

$$\hat{D} = -\ln \left[\hat{G}_{xy} / \sqrt{\hat{G}_x \hat{G}_y} \right],$$

donde \hat{G}_x y \hat{G}_y son los promedios de $(2n_x J_x - 1 / 2n_x - 1)$ y $(2n_y J_y - 1 / 2n_y - 1)$ para todos los loci, respectivamente; $\hat{G}_{xy} = J_{xy}$; representando J_{xy} , J_x y J_y la media para todos los loci de $\sum x_i y_i$, $\sum x_i^2$, $\sum y_i^2$, respectivamente.

Un estimador muy simple de distancia genética se basa en la proporción de alelos compartidos o D_{AS} (Chakraborty y Jin, 1993)

$$D_{AS} = 1 - \frac{2 \bar{P}_{SAkm}}{\bar{P}_{SAk} + \bar{P}_{SAm}},$$

donde \bar{P}_{SAk} y \bar{P}_{SAm} son las proporciones medias de alelos compartidos entre individuos que pertenecen a las poblaciones k y m, respectivamente; y \bar{P}_{SAkm} es la proporción media de alelos compartidos entre individuos pertenecientes a las poblaciones k y m.

Los estimadores ASD (Goldstein et al., 1995; Slatkin, 1995) y $(\delta\mu)^2$ (Goldstein et al., 1995) hacen uso de la diferencia de tamaño entre los alelos:

La distancia ASD se estima como

$$ASD = \frac{\sum_k^r \sum_{i,j} ((i-j)^2 x_{ik} y_{jk})}{r},$$

siendo x_{ik} e y_{jk} las frecuencias alélicas en las poblaciones X e Y de los alelos con i y j repeticiones, respectivamente.

En el caso de $(\delta\mu)^2$ la fórmula se expresa como

$$(\delta\mu)^2 = \frac{\sum_j^r (\mu_{xj} - \mu_{yj})^2}{r},$$

donde μ_{xj} y μ_{yj} son el número medio de repeticiones encontrado en los alelos de las poblaciones X e Y.

Otra distancia posible es el Coeficiente de Jaccard (CJ) (Jaccard, 1908) que estima la variabilidad a partir de los datos binarios, permitiendo obtener una estima no desviada de las distancias genéticas entre individuos, puesto que no considera la ausencia de un carácter o alelo como similitud entre individuos, utilizando la ecuación:

$$CJ_{ij} = \frac{a}{a + b + c}$$

Cada variable (a, b y c) refleja la siguiente situación (Tabla 10): (a) presencia del alelo en ambos genotipos, (b) presencia del alelo en el primer genotipo y ausencia en el segundo, y (c) presencia del alelo en el segundo genotipo y ausencia en el primero.

Tabla 10. Codificación binaria según la presencia (1) y/o ausencia (0) del alelo.

		Genotipo <i>i</i>	
		1	0
Genotipo <i>j</i>	1	(a) (1, 1)	(b) (1, 0)
	0	(c) (0, 1)	

El CJ también se ha utilizado en estudios de la familia Rosaceae (Decroocq et al, 2004; Hadonou et al, 2004; Lo et al., 2009; Hokanson et al., 2006; Rohrer et al., 2004) y es especialmente interesante en el análisis de individuos de distinto nivel de ploidía, situación corriente en peral, como han demostrado Lo et al. (2009). Diversos autores consideran que el CJ (Jaccard, 1908) es una buena estima de la similitud genética con marcadores tipo SSRs en comparación con técnicas convencionales de estimación (Zhuang et al., 2003; Zhang et al., 2006; Freitas et al., 2007; Mohammadi et al., 2008).

1.9 Variabilidad morfológica

En el Código Internacional para la Nomenclatura de Plantas Cultivadas se define el término cultivar en el artículo 10 como “un grupo de plantas cultivadas que se distingue claramente por medio de algunos caracteres (morfológicos, fisiológicos, citológicos, químicos u otros) y las cuales, cuando se reproducen (sexual o asexualmente), mantienen sus características distintivas. El término cultivar deriva de “cultivated variety” (Janick, 1988).

En la legislación de los derechos del obtentor (PBR, Plant Breeders Rights), antes de que un mejorador pueda recibir un certificado de protección de una variedad (una licencia PBR), el cultivar debe satisfacer los siguientes requerimientos: i) distinta, por una o más características morfológicas, fisiológicas u otras; ii) uniforme, aceptando algunas variaciones predecibles y comercialmente tolerables; y iii) estable, de tal forma que en la reproducción o reconstitución, permanecerá sin cambios en cuanto a sus características esenciales y de distinción, con un razonable grado de exactitud (Bailey, 1983).

Varios centros europeos asociados al “European Cooperative Programme for Crop Genetic Resources Network” (ECP/GR) están caracterizando y evaluando los cultivares de peral europeo, entre ellos España, Francia, Austria, Bélgica, Republica Checa, Grecia, Estonia, Italia, Portugal, Holanda, y Yugoslavia. En un primer estudio se han elegido los

cultivares más importantes, entre ellos ‘Mantecosa Hardy’, ‘Williams’, ‘Conference’ y ‘Doyenné du Comice’. Los principales objetivos del ECP/GR fueron: i) testar y mejorar los descriptores disponibles; y ii) hacer un análisis para probar la capacidad de discriminación de los descriptores entre los cultivares de peral (Maggioni et al., 2004). Entre los descriptores importantes están la época de la floración, la época de recolección, así como la forma, el tamaño y el color del fruto.

Las descripciones más antiguas de peral son aquellas recogidas en la “Cartografía de Frutales” (Herrero, 1964) como ya se ha comentado anteriormente. En dicho trabajo se realiza una descripción de variedades encontradas en España, haciendo referencia a su origen, a las características del fruto en cuanto a forma, color, y tamaño; y además incluye un dibujo esquemático de la pera.

En la actualidad existe una Oficina Española de Variedades Vegetales (OEVV) (www.mapa.es) que está relacionada con la Oficina Europea de Variedades Protegidas en el lugar de acceso “Catálogo comunitario de variedades protegidas” (<http://www.cpvo.fr/main/es/pagina-de-inicio/examenes-tecnicos/protocolos-tecnicos/pt-especies-de-frutales>). Para el registro de una nueva variedad hace falta seguir el protocolo definido en 2003 por el “Community Plant Variety Office” (http://www.cpvo.fr/documents/TP/fruits/TP_015_PYRUS_COMMUNIS.pdf), necesario para cumplir la regulación europea (“Council Regulation 2100/94 on Community Plant Variety Rights”), y que tiene como origen la guía de la UPOV para la realización del test para la distinción, uniformidad y estabilidad de variedades de peral (“UPOV Document TG/1/3 and UPOV Guideline TG/15/3 dated 04/05/2000 for the conduct of tests for Distinctness, Uniformity and Stability”).

1.9.1 *Análisis de la variabilidad*

En la descripción de la variabilidad de los caracteres computados nos encontramos con dos tipos de datos cuya evaluación puede ser distinta: i) datos de tipo cuantitativo; y ii) datos de tipo cualitativo.

1.9.1.1 Caracteres cuantitativos

Los caracteres cuantitativos difieren de los cualitativos en que las accesiones no se clasifican en categorías discretas, sino que el valor fenotípico del individuo se determina por la unidad de medida. Los caracteres cuantitativos están fuertemente influidos por las variables ambientales, lo cual contribuye a producir una distribución continua. Los caracteres cuantitativos se pueden expresar por el valor de la media y las medidas de dispersión, y se puede evaluar su variabilidad mediante el análisis de varianza. Por medio del análisis de la varianza se puede determinar si existen diferencias significativas entre cultivares, así como estimar la influencia del medio ambiente en una característica determinada.

1.9.1.2 Caracteres cualitativos

Los caracteres cualitativos son aquellos que pueden describirse y son los más fáciles de observar, porque cada individuo pertenece a una u otra categoría discreta, descriptiva y singular. Las características cualitativas se expresan en forma de frecuencias y pueden analizarse conjuntamente con las características cuantitativas mediante análisis multivariante, sea análisis de componentes principales, como análisis cluster. En castaño, se utilizaron características cualitativas y cuantitativas para analizar la variación de cultivares permitiendo describir los principales orígenes de variabilidad en cultivares de Galicia mediante análisis multivariante (Pereira-Lorenzo et al., 1996a) y clasificar los principales cultivares en España (Pereira-Lorenzo et al., 2006). En manzano, la utilización de análisis de componentes principales detectó los principales orígenes de variabilidad, una combinación de características cuantitativas y cualitativas, y permitió clasificar una amplia colección de cultivares gallegos (Pereira-Lorenzo et al., 2003).

1.10 Análisis de agrupaciones

Los análisis de agrupaciones discriminan datos por alguna variable de clasificación. Estos tienen como objetivo sintetizar la información suministrada por multitud de caracteres, reduciendo el número de variables con una pérdida de información mínima, además, examinan las relaciones dentro de un grupo de variables.

1.10.1 *Análisis Factorial de Correspondencias (FCA)*

Una medida de diversidad genética básica es la que se obtiene de aplicar un análisis clásico multivariante factorial, el análisis factorial de correspondencias (FCA) (Benzécri, 1973; Lebart et al., 1977; Escofier y Pagès, 1990). El FCA establece relaciones entre categorías de variables, definiendo similitudes o diferencias entre ellas, lo que permite después su agrupamiento si se detecta que existe “correspondencia” entre ellas. Esta aproximación fue desarrollada por Cavalli-Sforza et al. (1994), aplicada a datos de varias poblaciones humanas; y es especialmente interesante en el caso de poblaciones en las que se sabe que ha existido migración (Felsenstein, 1982).

Este método ha permitido diferenciar los grupos de cultivares de manzano de Galicia y Asturias de los cultivares comerciales, grupos definidos previamente por STRUCTURE (Pereira-Lorenzo et al., 2008). Esta metodología también permitió diferenciar distintas especies de castaño e híbridos específicos (Pereira-Lorenzo et al., 2010) y dos linajes en cultivares de vid del noroeste de España (Díaz-Losada et al., 2010).

1.10.2 *Análisis de Componentes Principales (ACP)*

El Análisis de Componentes Principales (ACP) es una técnica de análisis multivariante exploratorio que transforma un conjunto de variables correlacionadas en un conjunto más pequeño de variables independientes, las combinaciones lineales de variables originales, llamadas Componentes Principales (CP). El ACP se suele considerar como un método de reducción de datos, pero, más allá de este objetivo, una de las principales ventajas del ACP es resumir la información de varias variables correlacionadas en una o más combinaciones lineales independientes (CPs) que representa la mayor parte de la información contenida en las variables originales (Moroco, 2003).

Las combinaciones lineales de los caracteres medidos se calculan de la siguiente manera:

$$Y_1 = b_{11} x_1 + \dots + b_{1n} x_n$$

$$Y_n = b_{n1} x_1 + \dots + b_{nn} x_n,$$

donde cada combinación no está correlacionada con las demás, es decir, los vectores $(b_{1j}, \dots, b_{nj})'$ y $(b_{1k}, \dots, b_{nk})'$ son ortogonales (Goodman, 1973).

El cálculo de las CP equivale al cálculo de los valores propios positivos de la matriz de varianza/covarianza, o de la matriz de correlación, y de sus correspondientes vectores propios. La utilización de uno u otro tipo de matriz depende de la heterogeneidad de las variables computadas. Normalmente, si todas las unidades tienen la misma escala, se recomienda utilizar la matriz de varianza-covarianza (Isebrands y Crow, 1975).

Goodman (1973) reflexiona respecto al número de CPs: i) teóricamente se deberían utilizar todas las CP con valores $\lambda_{ki} > 0$, pero cuando estos valores son próximos a 0, su consideración aumentaría el valor real de las distancias calculadas; ii) la utilización de las dos o tres primeras CPs conlleva pérdida de información; y iii) el uso de las CPs con valores propios superiores a 1, que es la opción que este autor propone.

Como hemos señalado anteriormente, Goodman (1973) recomienda el uso del Análisis de Componentes Principales por su menor sensibilidad a la heterogeneidad de las matrices de varianza/covarianza. Además este tipo de análisis permite el manejo conjunto de datos de tipo cualitativo y cuantitativo, por el hecho de que supone una conversión de los datos binarios (datos cualitativos) en forma cuantitativa (Goodman, 1973; Green, 1979).

El análisis multivariante del tipo ACP ha sido utilizado para estudiar el germoplasma de especies perennes como *Castanea sativa* Mill. (Pereira et al., 1996a y b; 2006), *C. dentata* Borkh (Huang et al., 1998), *C. pumila* Mill. (Dane et al., 1999), *Malus xdomestica* (Pereira-Lorenzo et al., 2003), *Prunus armeniaca* L. (Pérez-Gonzalez, 1992), y *Juglans regia* L. (Fjellstrom et al., 1994). Esta técnica ha sido también utilizada en el estudio de la variabilidad genética en cultivos como *Zea mays* L. (Llauradó y Moreno-González, 1993), *Phaseolus vulgaris* L. (Martin y Adams, 1987) y *Eleusine coracana* (L.) Gaertn. (Hussaini et al., 1977).

1.10.3 Análisis cluster

El análisis cluster incluye un amplio conjunto de técnicas encaminadas a encontrar grupos de elementos similares dentro de un conjunto de datos para su clasificación. Podemos encontrarnos dos tipos fundamentales de métodos de clasificación: no jerárquicos y jerárquicos.

En los métodos de agrupamiento no jerárquicos (MANJ) se clasifican los individuos en k grupos, estudiando todas las particiones de individuos en esos k grupos y eligiendo la mejor partición (Sánchez, 2011).

Los métodos de agrupamiento jerárquicos (MAJ) producen una graduación de grupos según su nivel de similitud, desde grupos de elementos muy similares hasta grupos de elementos más distantes genéticamente. Estos grupos se suelen representar mediante dendrogramas o árboles. Los MAJ pueden ser asociativos o aglomerativos (se parte de tantos grupos como individuos existen y se van agrupando hasta llegar a tener todos los individuos en un solo grupo) o disociativos (se parte de un solo grupo que contenga a todos los individuos y se va separando hasta llegar a formar grupos individuales) (Sánchez, 2011). Estos métodos son especialmente útiles, pues no se limitan a un número predeterminado de grupos, pueden mostrar la similitud de las muestras a través de una amplia gama de escalas, y son particularmente comunes en las ciencias naturales (Holland, 2006).

En los MAJ existen una variedad de métodos que se basan en unos algoritmos que calculan la distancia de conexión y formación de los grupos. Los distintos algoritmos de clasificación difieren en la forma de definir esta transformación que equivale a la aplicación de una función (f) de las distancias originales (d). Un método ampliamente utilizado en biología es el UPGMA (“Unweighted Pair Groups Clustering Average”). Para una revisión más amplia, ver Sneath y Sokal (1973).

Los análisis cluster han sido utilizados ampliamente en otras especies frutales, tanto para características morfológicas (Pérez-Gonzalez, 1992; Llauroadó y Moreno-González, 1993; Pereira-Lorenzo et al., 1996a, 2003) como para marcadores moleculares (Pereira-Lorenzo et al., 1996b, 2008), e incluso en una combinación de características morfológicas y marcadores moleculares (Pereira-Lorenzo et al., 2003).

2. OBJETIVOS

2.1 General

En 2007 se comenzó un estudio de evaluación de los recursos fitogenéticos de peral recogidos en el CIAM mediante microsatélites, financiado por la Xunta de Galicia. El objetivo principal del proyecto PGIDIT06RAG29103PR (2007-2010), y reforzado luego con los proyectos de consolidación de grupos de investigación (INCITE07PXI303041ES, 2007; INCITE08E1R291055ES, 2008; INCITE09E2R291046ES, 2009; e IN845B-2010/080, 1010), era la evaluación de cultivares gallegos de peral mediante morfología, fenología y marcadores moleculares.

2.2 Específicos

Los objetivos específicos del estudio mediante marcadores moleculares tipo SSRs (microsatélites), datos fenológicos y morfológicos fueron los siguientes:

1. Estudiar la diversidad genética de los cultivares recogidos.
2. Identificar los distintos cultivares, las posibles sinonimias y homonimias del Banco, comparándolos con variedades comerciales de peral.
3. Estudiar la estructura genética de los cultivares existentes.
4. Determinar e identificar la variación fenológica y morfológica de los cultivares de la colección.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

El Banco de Germoplasma del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM), Xunta de Galicia, localizado en Mabegondo, A Coruña, fue establecido entre los años 1978 y 1981, y presenta 221 accesiones de peral (*Pyrus* spp.). Las accesiones fueron recogidas por las cuatro provincias gallegas, anotando en el momento de la recogida el nombre facilitado por el agricultor (Tabla 11). En los casos en que no se conocía la denominación de la muestra, ésta se introdujo en la colección como “Desconocida”. Además de los perales del CIAM, también se han estudiado 20 variedades comerciales como referencia (Tabla 12).

Tabla 11. Acciones de peral recogidas en el CIAM (Xunta de Galicia) y su procedencia.

Código	Denominación	Provincia	Localidad
CO1	Pera de Julio	A Coruña	Desconocida
CO2	Sevillana	A Coruña	Desconocida
CO3	Manteca Dorada	A Coruña	Desconocida
CO4	Millarenga	A Coruña	Desconocida
CO5	Barburiña	A Coruña	Desconocida
CO6	Manteca Morena	A Coruña	Desconocida
CO7	Urraca Pequeña	A Coruña	Desconocida
CO8	Mantecosa Grande	A Coruña	Desconocida
CO9	Tipo Manteca Temprana	A Coruña	Villajuan
CO10	San Benito 18 Julio	A Coruña	Villajuan
CO11	Jugosa Tardía	A Coruña	Villajuan
CO12	Tardía Muy Grande	A Coruña	Villajuan
CO13	Urraca	A Coruña	Villajuan
CO14	Grande Campana	A Coruña	Desconocida
CO15	Urraca Pequeña	A Coruña	Desconocida
CO16	Donguindo	A Coruña	Desconocida
CO17	Rabuda (Pé de Col)	A Coruña	Desconocida
CO18	Pera de Junio	A Coruña	Desconocida
CO19	Portuguesa	A Coruña	Desconocida
CO20	Desconocida	A Coruña	Desconocida
CO21	Manteca Oro	A Coruña	Desconocida
CO22	Pera de Julio	A Coruña	Desconocida
CO23	Rabuda	A Coruña	Desconocida
CO24	Tardía Noviembre	A Coruña	Desconocida
CO25	Donguindo	A Coruña	Desconocida
CO26	Follá	A Coruña	Desconocida
CO27	Manteca Blanca Grande	A Coruña	Bergondo
CO28	Rabuda Parda	A Coruña	Desconocida
CO29	Verdilarga	A Coruña	Desconocida
CO30	Pera de Junio	A Coruña	Culleredo
CO31	Compota Tardía	A Coruña	Desconocida
CO32	Pera Fidalga (Donguindo)	A Coruña	Desconocida
CO33	Urraca Pequeña	A Coruña	Desconocida
CO34	Mendoza	A Coruña	Desconocida
CO35	Urraca Grande	A Coruña	Desconocida
CO36	Pera Limón	A Coruña	Pontedeume
CO37	Canela Octubre	A Coruña	Pontedeume
CO38	Canela Pequeña	A Coruña	Pontedeume
CO39	Suiza Desección	A Coruña	Bergondo
CO40	Donguindo	A Coruña	Pontedeume
CO41	Amarilla Junio	A Coruña	Desconocida
CO42	Blanca Julio	A Coruña	Desconocida
CO43	Manteca Blanca Agosto	A Coruña	Desconocida
CO44	Manteca Oscura	A Coruña	Desconocida
CO45	Sevillana	A Coruña	Bergondo
CO46	Peros San Martiño	A Coruña	Padrón
CO47	Peros Santiago	A Coruña	Padrón
CO48	Peros Raposos	A Coruña	Padrón
CO49	Peros Miudos	A Coruña	Padrón
CO50	Pera de Codorno	A Coruña	Ortigueira
CO51	Pera Dulce	A Coruña	Ortigueira

Tabla 11 (Continuación). Acciones de peral recogidas en el CIAM (Xunta de Galicia) y su procedencia.

Código	Nombre local	Provincia	Localidad
CO52	Pera Libra	A Coruña	Ortigueira
CO53	Urraca Pequeña Agosto	A Coruña	Desconocida
CO54	Pera Blanca Primeros de Julio	A Coruña	Desconocida
CO55	Manteca Canela Agosto	A Coruña	Pontedeume
CO56	Manteca Oro	A Coruña	Desconocida
CO57	Urracas	A Coruña	Padrón
CO58	Peras de Espiño	A Coruña	Padrón
CO59	Pera Manteca	A Coruña	Padrón
CO60	Pera Lourenza	A Coruña	Padrón
CO61	De Invierno	A Coruña	Padrón
CO62	Barrosa	A Coruña	Padrón
CO63	Plateiras	A Coruña	Padrón
CO64	De Julio	A Coruña	Bergondo
CO65	Manteca Oscura	A Coruña	Ferrol
CO66	Manteca Oro	A Coruña	Ferrol
CO67	Pera Invierno	A Coruña	Ferrol
CO68	Urraca	A Coruña	Cabanas
CO69	San Germán	A Coruña	Cabanas
CO70	Donguindo	A Coruña	Cabanas
CO71	Tardía	A Coruña	Aranga
CO72	Temprana Agosto	A Coruña	Aranga
CO73	Barburiñas	A Coruña	Aranga
CO74	Manteca Oscura	A Coruña	Desconocida
CO75	Tenreiras	A Coruña	Ortigueira
CO76	Manteca	A Coruña	Ortigueira
CO77	Parece Clairgeau	A Coruña	Ortigueira
CO78	Urraca Grande	A Coruña	Ortigueira
CO79	Rabuda	A Coruña	Oza dos Ríos
CO80	Urraca Blanca	A Coruña	Padrón
CO81	Desconocida	A Coruña	Padrón
CO82	Desconocida	A Coruña	Padrón
CO83	Pera San Juan	A Coruña	Padrón
CO84	Desconocida	A Coruña	Padrón
CO85	Tardía	A Coruña	Padrón
CO86	Tardía Invierno	A Coruña	Padrón
CO87	Desconocida	A Coruña	Padrón
CO88	Desconocida	A Coruña	Padrón
CO89	Desconocida	A Coruña	Padrón
CO90	Codorno	A Coruña	Padrón
CO91	Urraca	A Coruña	Padrón
CO92	Urraca	A Coruña	Noia
CO93	Desconocida	A Coruña	Noia
CO94	Desconocida	A Coruña	Noia
CO95	De San Xoán	A Coruña	Noia
CO96	Rabuda	A Coruña	Noia
CO97	De Agosto	A Coruña	Noia
CO98	Tardía	A Coruña	Noia
CO99	Moi Boa	A Coruña	Noia
CO100	Peros de Santos	A Coruña	Noia
CO101	Duquesa de Angulema	A Coruña	Noia
CO102	Pera de San Luis	A Coruña	Noia

Tabla 11 (Continuación). Acciones de peral recogidas en el CIAM (Xunta de Galicia) y su procedencia.

Código	Nombre local	Provincia	Localidad
CO103	Pera de Noviembre	A Coruña	Noia
CO104	Conseridonia	A Coruña	Noia
CO105	Urraca	A Coruña	Pontedeume
CO106	Tardía	A Coruña	Mabegondo
CO107	Manteca	A Coruña	Desconocida
CO108	De Septiembre	A Coruña	Desconocida
CO109	De Octubre	A Coruña	Desconocida
CO110	Desconocida	A Coruña	Desconocida
CO 111	Agosto-Septiembre	A Coruña	Desconocida
CO112	Peros de Agosto-Septiembre	A Coruña	Desconocida
CO113	De Agosto	A Coruña	Desconocida
PT114	Desconocida	Pontevedra	Cambre
PT115	Manteca Oscura	Pontevedra	Cambre
PT116	Pera San Juan	Pontevedra	Cambre
PT117	Urraca	Pontevedra	Cambre
PT118	Barburiñas	Pontevedra	Silleda
PT119	Verdilarga	Pontevedra	Silleda
PT120	Sevillana	Pontevedra	Breixa
PT121	Desconocida	Pontevedra	Breixa
PT122	Urraca blanca	Pontevedra	Lalín
PT123	Pero de Invierno	Pontevedra	Lalín
PT124	Da Campaiña	Pontevedra	Lalín
PT125	Aguacenta	Pontevedra	A Estrada
PT129	Desconocida	Pontevedra	A Estrada
PT132	San Breixo	Pontevedra	Caldas
PT133	Rabo Largo	Pontevedra	Caldas
PT134	Desconocida	Pontevedra	Caldas
PT135	Bonita	Pontevedra	Caldas
PT136	Bergamota	Pontevedra	Caldas
PT137	Urraca Blanca	Pontevedra	Caldas
PT140	Desconocida	Pontevedra	Caldas
PT143	Grande Harinosa	Pontevedra	Cambados
PT144	Manteca 1ª de Agosto	Pontevedra	Cambados
PT145	Vagin	Pontevedra	Ponte Caldelas
PT146	Urraca Grande	Pontevedra	Ponte Caldelas
PT147	Campana	Pontevedra	Ponte Caldelas
PT150	Desconocida	Pontevedra	Redondela
PT151	Pera San Juan	Pontevedra	Redondela
PT152	Pera Compota	Pontevedra	Redondela
PT153	Desconocida	Pontevedra	Redondela
PT154	Desconocida	Pontevedra	Redondela
PT155	Desconocida	Pontevedra	Redondela
PT156	San Roque	Pontevedra	Redondela
PT157	Desconocida	Pontevedra	Redondela
PT158	Desconocida	Pontevedra	Moaña
PT160	De San Antonio	Pontevedra	Marín
PT161	De Santiago	Pontevedra	Marín
PT164	Pardas	Pontevedra	A Cañiza
PT165	Pero de Navidad	Pontevedra	Ponteareas
PT166	Pera Roja	Pontevedra	Vedra
PT167	Peros Amargos	Pontevedra	Vedra

Tabla 11 (Continuación). Acciones de peral recogidas en el CIAM (Xunta de Galicia) y su procedencia.

Código	Nombre local	Provincia	Localidad
LU168	Manteca Septiembre	Lugo	Foz
LU169	Redonda Agosto	Lugo	Foz
LU170	Desconocida	Lugo	Mondoñedo
LU171	De Invierno	Lugo	Mondoñedo
LU172	Desconocida	Lugo	Alfoz
LU173	Amarilla Agosto	Lugo	Mondoñedo
LU174	De Agosto	Lugo	Mondoñedo
LU177	Espadón de Agua	Lugo	Mondoñedo
LU178	Desconocida	Lugo	Guitiriz
LU179	Desconocida	Lugo	Guitiriz
LU180	Donguindo	Lugo	Guitiriz
LU184	Espigarda	Lugo	Chantada
LU185	Doña Juana	Lugo	Chantada
LU186	De Agua	Lugo	Chantada
LU187	Manteca Blanca	Lugo	Chantada
LU188	Santiaguesa	Lugo	Chantada
LU189	Parece Bosc	Lugo	Chantada
LU190	Desconocida	Lugo	Chantada
LU191	De Agosto	Lugo	Ribas do Sil
LU192	Pera de Santiago	Lugo	Ribas do Sil
LU193	Pera Canela	Lugo	Corgo
LU194	Parda de Septiembre	Lugo	Corgo
LU195	De Septiembre	Lugo	Becerreá
LU196	Pero	Lugo	As Nogais
LU197	San Lucas	Lugo	Pontenova
LU199	Rabuda o Pera do Pozo	Lugo	Pontenova
LU200	Fariñentas o de Cabana	Lugo	Pontenova
LU201	De Compota	Lugo	Pontenova
LU202	Rabuda de Compota	Lugo	Meira
LU203	Pardas de Noviembre	Lugo	Meira
LU204	Verdiñas Septiembre	Lugo	Meira
LU205	Desconocida	Lugo	Monforte
LU206	Desconocida	Lugo	Monforte
LU207	Desconocida	Lugo	Monforte
LU208	Desconocida	Lugo	Monforte
LU209	Desconocida	Lugo	Monforte
LU211	Pera Espín	Lugo	Fonsagrada
LU214	Desconocida	Lugo	Fonsagrada
OU215	Desconocida	Ourense	Maceda
OU216	Verdeñas	Ourense	Maceda
OU217	Manteca Oro	Ourense	Maceda
OU218	Da Sementeira	Ourense	Maceda
OU219	Pereira	Ourense	Celanova
OU220	San Xoan	Ourense	Celanova
OU221	Desconocida	Ourense	Allariz
OU223	Desconocida	Ourense	Allariz
OU224	Desconocida	Ourense	Verín
OU225	Desconocida	Ourense	Verín
OU226	Desconocida	Ourense	Verín
OU227	Desconocida	Ourense	Verín
OU228	Desconocida	Ourense	Barco de Valdeorras
OU230	Desconocida	Ourense	Barco de Valdeorras

Tabla 11 (Continuación). Acciones de peral recogidas en el CIAM (Xunta de Galicia) y su procedencia.

Código	Nombre local	Provincia	Localidad
OU229	Desconocida	Ourense	Barco de Valdeorras
OU231	Desconocida	Ourense	A Gudiña
OU232	Desconocida	Ourense	A Gudiña
OU233	Desconocida	Ourense	A Gudiña
OU234	Desconocida	Ourense	A Gudiña
OU235	Perón Navidad	Ourense	Carballiño
OU236	Verdeña	Ourense	Villamarín
OU237	Verdeales	Ourense	Ribadavia
OU238	Desconocida	Ourense	Ribadavia
OU239	Parecida Williams	Ourense	Ribadavia
OU240	Perifotes	Ourense	Parada de Sil
OU241	Desconocida	Ourense	Pobra de Trives
OU243	Desconocida	Ourense	Pobra de Trives
OU244	De San Roque	Ourense	A Rua
OU245	Pereiro	Ourense	Xinzo da Limia
OU246	Desconocida	Ourense	Bande

Además, y como ya se indicó, se estudió una colección de variedades comerciales instalada en la finca de prácticas de la Escola Politécnica Superior de Lugo (EPS) (10 cultivares), así como 8 perales comerciales facilitados por el centro de investigación de East Malling Research (EMR, Kent, Reino Unido), y otros 2 procedentes de las Islas Canarias (Cabildo de La Palma) (Tabla 12). El número total de individuos utilizados en este estudio fue de 241 (221 accesiones galegas y 20 comerciales).

Tabla 12. Variedades comerciales de *Pyrus* spp. estudiadas como referencias.

Nombre	Especie	Localidad
Abbe Fetel	<i>P. communis</i>	EMR ¹
Blanquilla	<i>P. communis</i>	EPS ²
Castell	<i>P. communis</i>	EPS
Chanticleer	<i>P. calleryana</i>	EMR
Conference	<i>P. communis</i>	EMR
Doyenné du Comice	<i>P. communis</i>	EMR
Ercolini	<i>P. communis</i>	EPS
General Leclerc	<i>P. communis</i>	EPS
Hosui	<i>P. pyrifolia</i>	EMR
Dr. Jules Guyot	<i>P. communis</i>	EPS
Mantecosa Hardy	<i>P. communis</i>	EPS
Nijisseiki	<i>P. pyrifolia</i>	EPS
Passe Crassane	<i>P. communis</i>	EMR
Péndula	<i>P. salicifolia</i>	EMR
Precoce Morettini	<i>P. communis</i>	EPS
Roma	<i>P. communis</i>	La Palma ³
Shinseiki	<i>P. pyrifolia</i>	EPS
Tosca Mediana	<i>P. communis</i>	La Palma
Max Red Bartlett	<i>P. communis</i>	EPS
Williams	<i>P. communis</i>	EMR

¹EMR - East Malling Research; ²EPS - Escola Politécnica Superior de Lugo; ³Cabildo de la Palma - Isla de La Palma

3.2 Caracterización Genética

3.2.1 Extracción de ADN

La extracción de ADN se hizo a partir de hojas frescas, cuando fue posible, y en caso contrario a partir de material congelado. Para llevar a cabo la extracción se empleó un "kit" de extracción (DNeasy Plant Mini Kit) de la marca comercial QUIAGEN® (QUIAGEN, Hilden, Alemania), siguiendo el siguiente protocolo:

1. En un tubo tipo Eppendorf de 1,5 ml se machacan 100 mg de material vegetal con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino, no permitiendo que la muestra se descongele.

2. Se añaden 400 µl de tampón AP1 (tampón de lisis) y 4µl de RNase A. Se mezcla vigorosamente con el vórtex para evitar la formación de grumos.

3. La mezcla se incuba durante 10 minutos a una temperatura de 65 °C, agitando los tubos 2-3 veces durante la incubación de los mismos (en este paso se produce la ruptura de las células vegetales).

4. Se añaden 130 µl del tampón AP2 (tampón de precipitación), se mezcla y se incuba 5 minutos en hielo (en este paso se produce la precipitación de los detergentes, proteínas y polisacáridos).

5. Se centrifugan las muestras 5 minutos a 20000 xg (14000 rpm). Posteriormente se pasa el sobrenadante a la columna "Mini spin QiAshredder".

6. Se centrifuga 2 minutos a 20000 xg. La columna va a retener la mayor parte de los desechos y precipitados de las células, pero una pequeña parte va a pasar a través del filtro de la misma.

7. La fracción líquida que se ha filtrado al tubo inferior se pasa a un nuevo tubo de 1,5 ml, sin deshacer el "pellet" de residuos celulares.

8. Se añade 1,5 veces el volumen del lisiado obtenido de tampón AP3 (mezclando rápidamente con una pipeta).

9. La mezcla se pasa a una nueva columna "DNeasy mini spin" incluyendo el sedimento que se forma. Se centrifuga durante 1 minuto a 6000 xg (8000 rpm) y se elimina el líquido de la parte inferior.

10. La columna "DNeasy mini spin" se coloca en un nuevo tubo de 2 ml y se añaden 500 µl de tampón AW (tampón de lavado), centrifugando posteriormente 1 minuto a 6000 xg.

11. Se elimina el líquido del tubo inferior y se reutiliza dicho tubo en el paso 12.

12. Se añaden de nuevo 500 µl del tampón AW a la columna "DNeasy mini spin" y se centrifuga durante 2 minutos a 20000 xg para secar la membrana. Se elimina el líquido del tubo inferior. La membrana ha de estar levemente coloreada, si está muy coloreada, se añaden 500 µl de etanol (96-100%) y se centrifuga durante 2 minutos a 20000 xg.

13. Se transfiere la columna a un tubo de 1,5 ml tipo Eppendorf y se añaden a la columna 50 µl de tapón AE (tampón de dilución) precalentado a 65 °C.

14. Se incuba durante 5 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C) y después se centrifuga durante un minuto a 6000 xg para diluir.

15. Se repiten los pasos 14 y 15, obteniendo de esta forma dos tubos con 50 µl de ADN, que se guardan congelados hasta el momento de su cuantificación.

3.2.2 Estimación de la calidad y cantidad de ADN

Una vez extraídas las muestras mediante el procedimiento anterior, se procede a su cuantificación, con el fin de determinar la cantidad de ADN que hay en las mismas. Como patrón comparativo de la concentración de la solución de ADN muestra se utiliza el marcador λ digerido (MBI Fermentas) de concentración conocida. En los cuatro primeros pocillos del gel se carga el λ a distintas concentraciones de ADN conocidas (60, 120, 180 y 240 ng respectivamente). Se toman 3 µl de ADN de cada una de las muestras extraídas, y se le añaden 5 µl de azul de carga (bromofenol + xilencianol), completando con agua destilada ultra pura hasta un volumen total de 13 µl, es decir:

Pocillo 1: 1 µl de λ + 7 µl de H₂O + 5 µl de azul de carga

Pocillo 2: 2 µl de λ + 6 µl de H₂O + 5 µl de azul de carga

Pocillo 3: 3 µl de λ + 5 µl de H₂O + 5 µl de azul de carga

Pocillo 4: 4 µl de λ + 4 µl de H₂O + 5 µl de azul de carga

Pocillo 5 y siguientes: 3 µl de muestra + 5 µl de H₂O + 5 µl de azul de carga

Se cargan en un gel de agarosa y se coloca en la fuente de electroforesis donde se somete a un campo eléctrico de 110 V durante media hora.

Luego, y por comparación de la intensidad de las manchas de las muestras de ADN con el patrón de λ , se determina la cantidad de ADN presente en cada una de las muestras (Figura 3), y se procede a su dilución con TE con el fin de tenerlas todas a la misma concentración de trabajo (5 ng/ml).

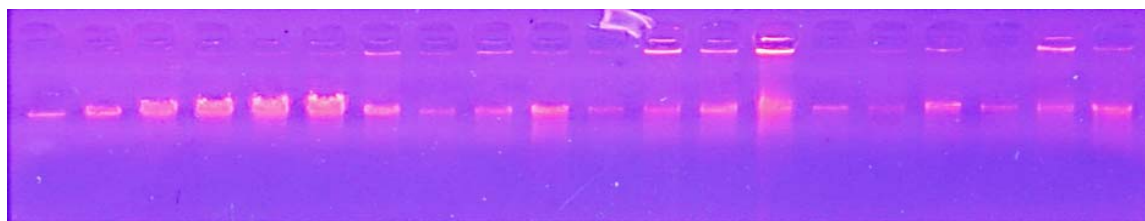


Figura 3. Electroforesis en gel de agarosa del ADN de diversas muestras de perales para su cuantificación teniendo como referencia el patrón de λ .

3.2.3 *Análisis de microsatélites*

3.2.3.1 Secuencias utilizadas

Se estudiaron 19 microsatélites (Tabla 13) con elevado grado de polimorfismo en estudios previos (Bassil et al., 2009; Evans et al., 2009; Fernández-Fernández et al., 2006; Patocchi et al., 2009), 15 de ellos pertenecientes a grupos de ligamiento distintos para asegurar su independencia. Los cuatro restantes SSRs (CH01d08, CH05a02, CH02c09 y CH02d11) amplifican en el grupo de ligamiento 15, separados entre ellos a más de 30 cM (Yamamoto et al., 2007) y, por tanto, se pueden considerar que están ligados. Entre estos SSRs, hemos seleccionado para algunos análisis CH02c09 (115.4 cM) y CH05a02 (9.10 cM), los cuales están separados a más de 100 cM.

Un total de 16 de los 19 SSRs fueron desarrollados previamente para manzano: CH-Vf1 (Vinatzer et al., 2004); GD142, GD147 (Hokanson et al., 1998); CH01d08, CH01d09, CH01f07a, CH02b10, CH02c09, CH02c11, CH02d11, CH03d12, CH03g07, CH04c07, CH04e03, CH05a02 y CH05c06 (Gianfranceschi et al., 1998; Liebhard et al., 2002). Para todos los SSRs, la primera secuencia va marcada con un fluorocromo para su posterior lectura con el analizador de fragmentos (Tabla 13).

La selección de estos microsatélites se ha realizado en coordinación con otros grupos de europeos que están trabajando con el mismo objetivo. Esto permitirá en el futuro comparar nuestros resultados con los de otras zonas europeas.

El locus CH05a02 presenta dos grupos de ligamiento en peral, grupos 8 y 15 (Pierantoni et al., 2004), dándose una situación diferente a lo que ocurre en manzano, que pertenece solamente al grupo 8 (Liebhard et al., 2002).

Tabla 13. Características de los microsatélites utilizados en *Pyrus* spp.

Locus	Motivo de repetición	Tipo de locus	Tipo de repetición del SSR	Grupo de ligamiento	Secuencia iniciadoras 5' → 3'	Colorante reactivo fluorescente
CH01d03 ¹		Múltiple	Perfecto	4, 12	(F) CCA CTT GGC AAT GAC TCC TC (R) ACC TTA CCG CCA ATG TGA AG	VIC
CH01d08 ¹		Simple	Perfecto	15	(F) CTC CGC CGC TAT AAC ACT TC (R) [GTT] TAC TCT GGA GGG TAT GTC AA	NED
CH01d09 ¹		Simple	Perfecto	12	(F) CCC TTC ATT CAC ATT TCC AG (R) GCC ATC TGA ACA GAA TGT GC	VIC
CH01f07a ¹		Simple	Perfecto	10	(F) CCC TAC ACA GTT TCT CAA CCC (R) CGT TTT TGG AGC GTA GGA AC	VIC
CH02b10 ²	(GA) _{19,5}	Simple	Perfecto	2	(F) CAA GGA AAT CAT CAA AGA TTC AAG (R) CAA GTG GCT TCG GAT AGT TG	PET
CH02c09 ¹		Simple	Perfecto	15	(F) TTA TGT ACC AAC TTT GCT AAC CTC (R) AGA AGC AGC AGA GGA GGA TG	6-FAM
CH02c11 ¹		Simple	Imperfecto	10	(F) TGA AGG CAA TCA CTC TGT GC (R) TTC CGA GAA TCC TCT TCG AC	PET
CH02d11 ²	(AG) ₂₁	Simple	Perfecto	15	(F) AGC GTC CAG AGC AAC AGC (R) AAC AAA AGC AGA TCC GTT GC	NED
CH03d12 ¹		Múltiple	Imperfecto	6	(F) GCC CAG AAG CAA TAA GTA AAC C (R) ATT GCT CCA TGC ATA AAG GG	6-FAM
CH03g07 ¹		Simple	Perfecto	3	(F) AAT AAG CAT TCA AAG CAA TCC G (R) TTT TTC CAA ATC GAG TTT CGT T	6-FAM
CH04c07 ¹		Simple	Perfecto	14	(F) GGC CTT CCA TGT CTC AGA AG (R) CCT CAT GCC CTC CAC TAA CA	6-FAM
CH04e03 ¹		Simple	Perfecto	11	(F) TTG AAG ATG TTT GGC TGT GC (R) TGC ATG TCT GTC TCC TCC AT	PET
CH05a02 ¹		Múltiple	Perfecto	8, 15	(F) GTT GCA AGA GTT GCA TGT TAG C (R) TTT TGA CCC CAT AAA ACC CAC	6-FAM
CH05c06 ¹		Simple	Imperfecto	16	(F) ATT GGA ACT CTC CGT ATT GTG C (R) ATC AAC AGT AGT GGT AGC CGG T	6-FAM
CH-Vf1 ³	(AG)	Simple	Imperfecto	1	(F) ATC ACC ACC AGC AGC AAA G (R) CAT ACA AAT CAA AGC ACA ACC C	NED
EMPe11 ⁴	(AC) ₁₃	Desconocido	Desconocido	Desconocido	(F) GCG ATT AAA GAT CAA TAA ACC CATA (R) AAG CAG CTG GTT GGT GAA AT	VIC
EMPe117 ⁴	(CT) ₁₇	Desconocido	Desconocido	Desconocido	(F) GTT CTA TCT ACC AAG CCA CGC T (R) CGT TTG TGT GTT TTA CGT GTT G	VIC
GD142 ⁵	(TC) ₁₉	Simple	Perfecto	Desconocido	(F) GGC ACC CAA GCC CCT AA (R) GGA ACC TAC GAC AGC AAA GTT ACA	6-FAM
GD147 ⁵	(AG) ₇	Simple	Desconocido	13	(F) TCC CGC CAT TTC TCT GC (R) AAA CCG CTG CTG CTG AAC	PET

¹Liebhard et al. (2002), ²Gianfranceschi (1998), ³Vinatzer et al. (2004), ⁴Fernández-Fernández et al. (2006), ⁵Hokanson et al. (1998).

3.2.3.2 Reacción de amplificación de la PCR ('Polymerase Chain Reaction')

Una vez realizada la cuantificación y dilución de las muestras se procede a la amplificación de las mismas.

Para llevar a cabo la amplificación se prepara una solución cuya composición aparece reflejada en la Tabla 14. Los productos utilizados son parte de un kit de amplificación KAPATaq® (versión 3.07) de la compañía KAPABIOSYSTEMS.

Tabla 14. Composición de la solución de amplificación de la PCR.

Producto	Cantidad
Agua	7,4 µL
dNTP's mix (dATP, dCTP, dGTP y dTTP) (25 mM)	0,36 µL
PCR 10X buffer with Mg ²⁺ (1X)	1,25 µL
<i>Primer Forward</i> (0,4 µM)	0,32 µL
<i>Primer Reverse</i> (0,4 µM)	0,32 µL
Taq (1 U)	0,1 µL
ADN (5 ng)	1 µL
Total	11 µL

3.2.3.3 Amplificación de las secuencias

Una vez hecha la solución de la PCR, se distribuye en tubos, añadiendo en cada uno de ellos una muestra diferente, y se procede a la amplificación de la misma en un termociclador (PTC-100 de M.J.Research, INC ó GeneAmp PCR System 2700) utilizando las condiciones definidas por Fernández-Fernández et al. (2008) (Tabla 15).

Tabla 15. Condiciones de la PCR para los microsatélites utilizados (Fernández-Fernández et al., 2008).

Temperatura (°C)	Ciclos	Duración
94°	1	5'
94°	15	30''
55-50° (▼0,5° por ciclo)		45''
72°		60''
64°		30''
50°	25	45''
72°		60''
72°		15'
Total	42	≈ 1h 50'

Terminada la amplificación, se separan 5 μ l de cada muestra y se cargan en un gel de agarosa y por medio de la intensidad de las manchas observadas se determina el nivel de carga, con el fin de diluirlas para que todas tengan la misma intensidad en el analizador de fragmentos.

Los 6 μ l restantes, se guardan a -20°C , hasta el momento de ser llevados al analizador de fragmentos.

3.2.3.4 Preparación de los geles

Se preparan dos tipos de geles de agarosa, dependiendo de si se van a emplear para pruebas de cuantificación o de amplificación. Tanto la composición como la preparación del gel es la misma, solo varía la concentración de agarosa empleada. Las pruebas de cuantificación se hacen en geles de 0,8% y las de amplificación en geles del 2% de agarosa diluida en TBE 0,5x (0,04M de TRIS y 0,04M de ácido bórico) y teñidos con bromuro de etidio (1 μ l/100 ml).

Primero se prepara el molde del gel, colocando cinta adhesiva en los extremos y colocando los peines que permiten la formación de los pocillos de carga. A continuación se prepara el gel, pesando la agarosa, introduciéndola en un matraz, y diluyéndola en el tampón del gel (TBE 0,5x). A continuación se introduce en el microondas hasta que hierva y desaparezcan todas las burbujas. Se enfría debajo del grifo, hasta que la temperatura sea de unos 50°C , agitando suavemente. Después, se le añade bromuro de etidio (1 μ l/100 ml), se agita ligeramente y se vierte en el molde. Por último, se deja enfriar y solidificar durante media hora aproximadamente.

3.2.3.5 Electroforesis y separación de fragmentos

Para realizar la electroforesis, se emplean cubetas horizontales de metacrilato para geles de agarosa, conectadas a los polos de una fuente de alimentación (ATOM 501, 0-500 V, 0-100 mA), con tampón TBE 0,5x.

El tamaño de la bandeja de gel es de 15 x 20 cm, y se emplean peines de 15, 20 y 30 pocillos. Los geles son visualizados en un transiluminador (TFX-20M) de luz UV.

Una vez comprobado en el gel de agarosa que las bandas de ADN salen nítidas (Figura 4), se lleva la parte de la muestra que previamente se había congelado, disuelta en agua destilada ultra pura, al secuenciador automático ABI 3730 para el análisis de fragmentos.

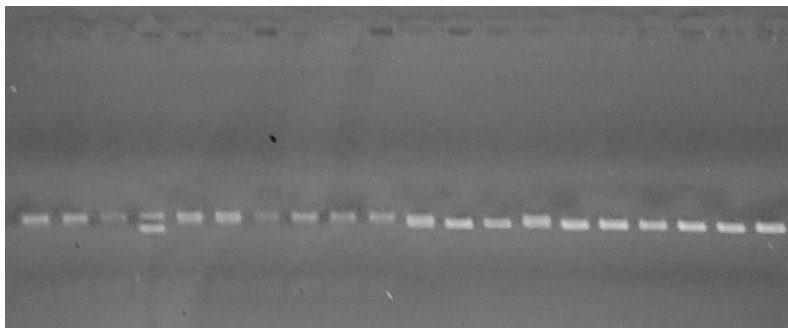


Figura 4. Visualización en gel de agarosa del producto de la electroforesis de la PCR utilizando las muestras de ADN de peral (*Pyrus spp.*).

A partir de las lecturas de precisión mediante laser hechas por el analizador de fragmentos ABI 3730, la interpretación de los resultados se realizó con el programa Peak Scanner v.1.0 (AB, 2009) a partir de los picos detectados (Figura 5).

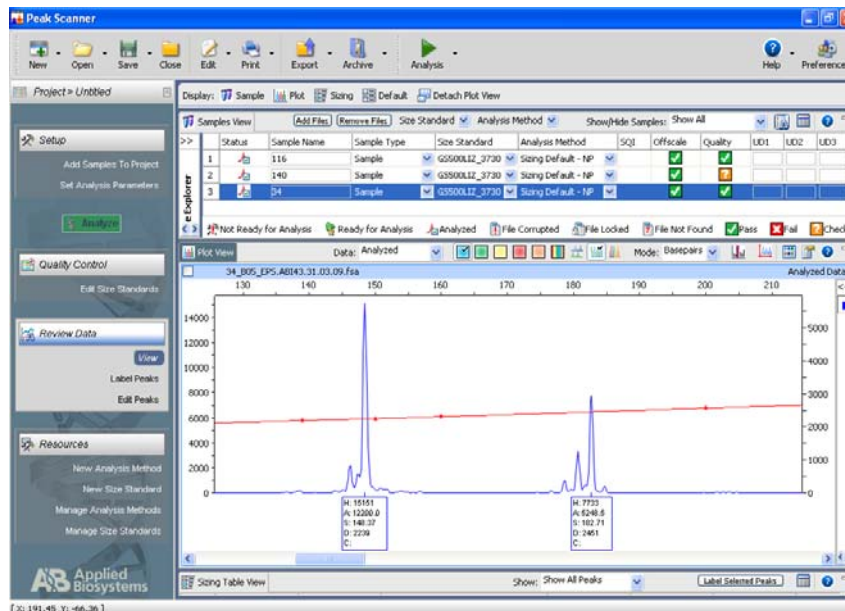


Figura 5. Interpretación de las lecturas obtenidas por el analizador de fragmentos ABI 3730 en el programa Peak Scanner v.1.0 en función del locus y tamaño alélico.

3.2.4 *Análisis Estadístico*

Para estimar los parámetros genéticos se han considerado cuatro agrupaciones diferentes correspondientes a las zonas geográficas, atendiendo a su provincia de localización en Galicia (A Coruña, Lugo, Ourense y Pontevedra). Se ha considerado una quinta agrupación considerando las 20 variedades comerciales de referencia.

3.2.4.1 Perfil del loci

3.2.4.1.1 Frecuencias alélicas

Una vez conocido el genotipo de cada una de las accesiones de peral se calcularon, por locus y para cada población, las frecuencias alélicas, utilizando el programa estadístico Genodive (Meirmans y Van Tienderen, 2004):

$$\hat{P}_i = n_i / n$$

siendo:

\hat{P}_i = frecuencia del alelo i

n_i = número de veces que se presenta del alelo i

n = número total de alelos mostrados

Las frecuencias de cada locus, por provincia, se representaron por agrupación utilizando histogramas elaborados en el programa Microsoft Office Excel® 2007 (Microsoft, 2007). Se consideraron como alelos raros aquellos con una frecuencia alélica inferior al 5%.

3.2.4.1.2 Estimación de alelos nulos

Se implementó un primer análisis con el programa informático Micro-Checker ver. 2.2.3 (Van Oosterhout et al., 2004) para estimar la frecuencia de alelos nulos cuando estos estuvieran presentes.

3.2.4.2 Clonalidad

La clonalidad se determinó como el porcentaje de genotipos repetidos respecto al número (n°) total de accesiones evaluadas, según la siguiente fórmula:

$$Clonalidad = 100 - \frac{n^{\circ} \text{ genotipos diferentes}}{n^{\circ} \text{ accesiones totales}} \times 100$$

3.2.4.2.1 Heterocigosidad

La heterocigosidad observada (H_o) y la esperada (H_e) se calcularon por locus y agrupación, utilizando el programa informático Spaguedi v.1.3 (Hardy y Vekemans, 2002).

3.2.4.2.2 Los estadísticos F de Wright

Los valores estadísticos de F se estimaron para cada agrupación y locus según el método de Weir y Cockerham (1984), utilizando el programa informático Genodive (Meirmans y Van Tienderen, 2004).

3.2.4.3 Distancias genéticas

Se estimó la distancia la disimilitud genética de Nei (1978) (\hat{D}) entre los cinco grupos (cuatro provincias gallegas y los cultivares de referencia) por medio del programa Genodive (Meirmans y Van Tienderen, 2004). El dendrograma se obtuvo utilizando el método de Agrupación de la Aritmética No Ponderada (UPGMA) (Sneath y Sokal, 1973) mediante el paquete estadístico XLSTAT (Addinsoft, 2009).

Con los datos de los alelos para cada locus de cada genotipo del CIAM y cultivares comerciales de referencia se elaboró una base binaria, en la que cada alelo para cada accesión fue designado como 1 (uno) si dicho alelo estaba presente y 0 (cero) si estaba ausente. A partir de la matriz binaria se estimó la similitud genética mediante el coeficiente de Jaccard (1908). Los índices de similitud genética y el dendrograma se realizaron utilizando el método UPGMA (Sneath y Sokal, 1973), obtenidos mediante el paquete estadístico FreeTree (Hapl et al., 2001) y el programa XLSTAT (Addinsoft, 2009). Para

evaluar la consistencia de las ramificaciones generadas por el UPGMA se determinaron los “bootstraps” (2000x).

3.2.4.4 Análisis de estructura

Con la base de datos de los genotipos únicos de *Pyrus* spp. para los 19 microsatélites, o “Colección de genotipos únicos”, se determinó la estructura genética utilizando el programa informático STRUCTURE 2.0 (Pritchard et al., 2000). Se analizó la hipótesis de que los genotipos podrían estar agrupados en un número comprendido entre 1 y 12 poblaciones (K). Se usó una longitud de la carrera de la Cadena de Harkov Monte Carlo (MCMC) de 1000000 pasos, con 30000 pasos previos de desmemorización. También se consideró que cada genotipo tenía un origen anónimo (utilizando las opciones ‘usepopinfo = 0, popflag = 0’). Para cada K, se realizó un número máximo de 5 iteraciones aleatorias. Una vez finalizado el análisis, se observó en cuantas poblaciones, entre 1 y 12, estaban agrupadas todos los cultivares, en función de su genotipo. También se aceptó que cada genotipo correspondía a un árbol de origen anónimo (utilizando las opciones ‘usepopinfo = 0, popflag = 0’).

Una vez alcanzada la K más probable para la “Colección de genotipos únicos” con la metodología descrita por Evanno et al. (2005), se calcularon los valores qI (proporción de ancestría) medios para 5 iteraciones, como definieron Breton et al. (2006) y Pereira-Lorenzo et al. (2008, 2010), considerando 80% el valor mínimo de asignación a cada RPP, porque una probabilidad inferior significaría que la accesión pertenece a más de una subpoblación.

Posteriormente, y utilizando STRUCTURE, se realizó una representación gráfica de los genotipos de *Pyrus* spp. agrupados en función del grado de mezcla genética que presentaran de cada una de las subpoblaciones reconstruidas (RPPs) detectadas en el análisis con el mismo programa.

Para estimar la diversidad molecular de las muestras se llevó a cabo un Análisis Molecular de la Varianza (AMOVA) generado con el programa informático Genodive permutando genotipos individuales según las nuevas poblaciones reconstruidas (RPPs) detectadas con STRUCTURE, calculándose, además de los componentes de la varianza, el F-estadístico F_{ST} (Wright, 1965), y el R-estadístico R_{ST} (Slatkin, 1995), como previamente

se realizó en olivo (Breton et al., 2006) y en manzano y en castaño (Pereira-Lorenzo et al., 2008, 2010).

3.2.4.5 Análisis factorial de correspondencias

Se utilizó el programa GENETIX (Belkhir et al., 1996-2004) para realizar un análisis factorial de correspondencia (AFC) de los genotipos de peral bajo dos supuestos:

- i) según sus correspondientes áreas geográficas de procedencia (A Coruña, Lugo, Ourense y Pontevedra), y el grupo de cultivares utilizados como referencia.
- ii) según las nuevas poblaciones reconstruidas (RPPs) detectadas con el programa STRUCTURE.

3.3 Caracterización de los perales del CIAM

Los descriptores y metodología empleados en la caracterización morfológica de los genotipos de peral del CIAM se han adaptado de la “Union for the Protection of New Varieties of Plants” [UPOV (2000)], y del “International Board for Plant Genetic Resources” [IBPGR (1983)].

A continuación se presentan las características estudiadas en el presente trabajo, incluyendo previamente los datos de pasaporte que permiten una correcta identificación de las muestras.

3.3.1 *Datos del pasaporte*

3.3.1.1 Número de identificación (IBPGR 1.1)

La información existente de la colección de perales del CIAM es un código de identificación en la colección que hace referencia a las provincias donde se recogieron (CO, A Coruña; LU, Lugo; OU, Ourense; y PT, Pontevedra), seguido de un número que corresponde al orden de recogida, desde el CO1 al OU246.

3.3.1.2 Denominación (IBPGR 2.12)

Nombre facilitado por el agricultor al efectuar la prospección. Si no se conoce se recoge como Desconocida, y posteriormente se le asignó el nombre de CIAM.

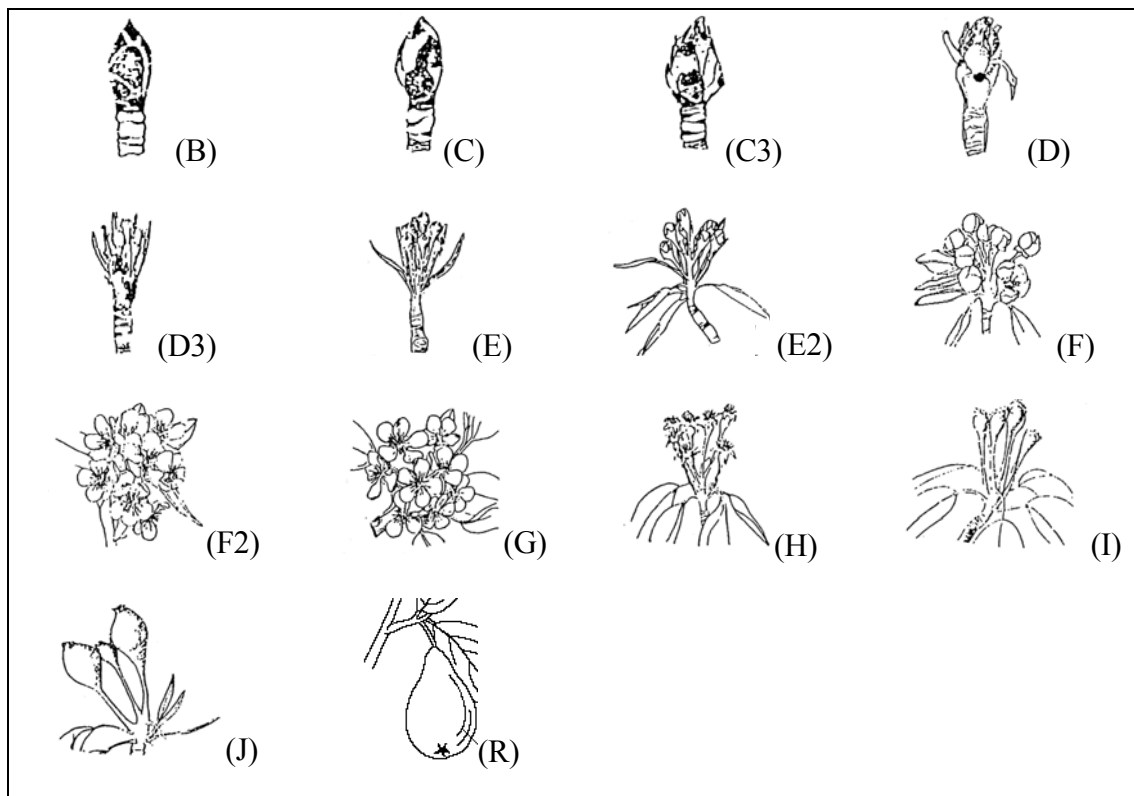
3.3.1.3 Procedencia (IBPGR 2.5)

Localidad, Municipio y Provincia donde se recolectó la accesión. Se indican latitud y longitud del lugar, tomados de mapas topográficos del ejército a escala 1:50000.

3.3.2 *Caracterización fenológica*

Para caracterizar los estadios fenológicos se empleó la clasificación de Fleckinger (1964). La toma de datos se efectuó 2 días a la semana desde del estadio B (la yema empieza a hincharse) hasta el estadio R (recolección del fruto) anotándose el estadio más frecuente, el más avanzado y el más retrasado de cada clon, en cada fecha. Los datos fueron tomados en los años 1999, 2000, 2008 y 2010. Como consecuencia, las variables asociadas a las observaciones de fenología son las reflejadas en la Figura 6.

Figura 6. Consideraciones preliminares de los estadios fenológicos de peral [basado en Fleckinger (1964)].



(B, C y C3) la yema empieza a hincharse, (D y D3) aparición de los botones florales, (E) los pétalos dejan ver los sépalos, (E2) primera flor, (F) primera flor abierta, (F2) plena floración, (G) caída de los primeros pétalos, (H) caída de los últimos pétalos, (I y J) engrosamiento de los frutos, (R) recolección del fruto.

La floración (F y F2) se define en tres subestadios, IF (primera flor, cerca de 5% de flores abiertas en el árbol), PF (plena floración, más de 50% de flores abiertas en el árbol), y FF (final de la floración, 95% de flores abiertas en el árbol).

3.3.3 Clasificación morfológica

Para las observaciones del fruto se recogieron al menos 20 peras no terminales de dos árboles distintos en madurez fisiológica, de las que se seleccionaron 10 que se consideraron representativas para realizar las mediciones.

En total se han estudiado 22 características que han dado lugar a 78 variables. El estudio del fruto se realizó entre los años 1999, 2000, 2007, 2008 y 2009, disponiendo de un mínimo de dos años de repeticiones para gran parte de los caracteres estudiados. La producción de fruto fue muy irregular y escasa en muchos genotipos. Los descriptores empleados fueron las características visuales y organolépticas del fruto, además de características químicas del zumo.

3.3.3.1 Características visuales de la pera

a. Peso (g): Peso del fruto en gramos.

b. Longitud (L) (mm): Longitud del fruto considerando los puntos más distantes en mm (Figura 7) (UPOV TG/15/3 37).

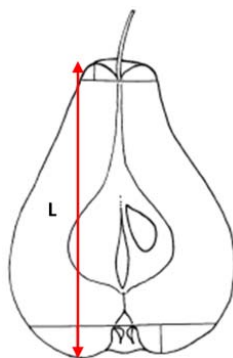


Figura 7. Longitud (L) de la pera [adaptado de UPOV (2000)].

c. Posición del diámetro máximo (Figura 8) (UPOV TG/15/3 40):

- c.1) En el medio
- c.2) Ligeramente hacia el cáliz
- c.3) Claramente hacia el cáliz

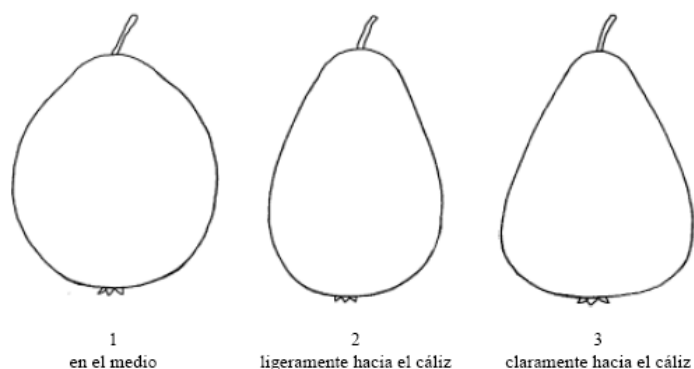


Figura 8. Posición del diámetro máximo de la pera [adaptado de UPOV (2000)].

d. *Diámetro Máximo (DM) en mm* (Figura 9) (UPOV TG/15/3 38).

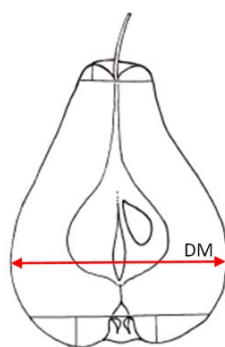


Figura 9. Diámetro máximo (DM) de la pera [adaptado de UPOV (2000)].

e. *Relación entre la longitud y el diámetro máximo del fruto (Rella)* (UPOV TG/15/3 39).

f. *Distancia al diámetro máximo (DDM) en mm*: Se define como la posición en el eje vertical hacia donde se encuentra desplazado el diámetro máximo del fruto (Figura 10):

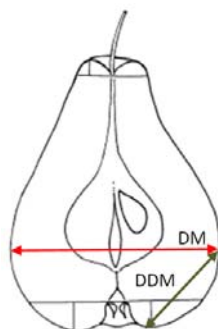


Figura 10. Distancia al diámetro máximo (DDM) de la pera [adaptado de UPOV (2000)].

g. *Perfil lateral*: Se define principalmente en función de la posición del diámetro máximo (UPOV TG/15/3 43) (Figura 11):

g.1) Cóncavo

g.2) Recto

g.3) Convexo

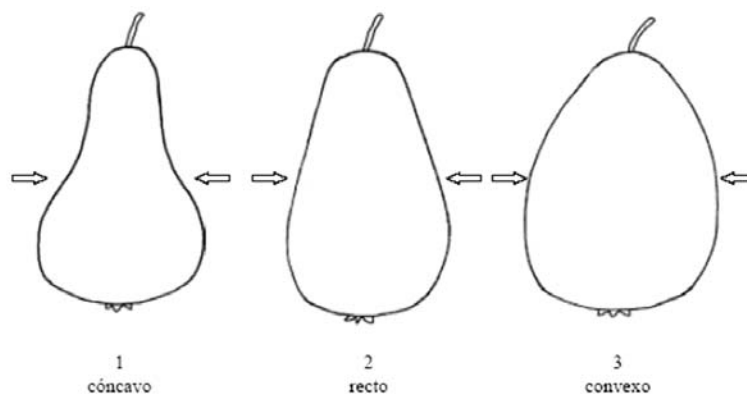
































Figura 11. Perfil lateral de la pera [adaptado de UPOV (2000)].

h. *Código de la forma* (IBPGR 6.2.10): Se determina la forma del fruto en función de los datos recogidos en la Tabla 16.

Tabla 16. Código de la forma en función de la relación longitud y diámetro, posición del diámetro máximo y el perfil lateral del fruto de la pera [adaptado de IBPGR (1983)].

Relación longitud/diámetro	Posición del diámetro máximo					
	Claramente hacia el cáliz		Ligeramente hacia el cáliz		En el medio	
Muy corto <1,1						
Corto 1,1-1,25						
Intermedio 1,26-1,50						
Alargado 1,51-1,58						
Muy alargado >1,80						
Perfil lateral	Cóncavo		Recto		Convexo	

i. *Color de la epidermis o color de fondo de la epidermis*: Determinado por el color que se distribuye por la superficie del fruto (UPOV TG/15/3 44):

- i.1) Amarillo
- i.2) Amarillo ocre
- i.3) Amarillo verdoso
- i.4) Verde
- i.5) Verde amarillento

j. *Color de la chapa (UPOV TG/15/3 46)*: en peras con epidermis bicolor, color de la chapa que recubre el color de epidermis:

- j.1) Naranja
- j.2) Rojo

k. *Intensidad de la chapa:*

k.1) Pálida

k.2) Media

k.3) Fuerte

l. *Tipo de chapa:*

l.1) Sin chapa

l.2) A rayas gruesas

l.3) A manchas

l.4) Salpicada

l.5) Coloreada a Lavada

m. *Presencia de ruseting en la epidermis:* Indica el porcentaje de epidermis que está cubierta de “ruseting” (pardeamiento áspero superficial que se presenta en el fruto) (adaptado de la *UPOV TG/15/3 48*):

m.1) 0-25%

m.2) 26-50%

m.3) 51-75%

m.4) 76-100%

n. *Intensidad de los ataques de moteado (Venturia spp.) en el fruto.*

n.1) Ausente

n.2) Moderado

n.3) Fuerte

3.3.3.2 Características organolépticas de la pera

a. *Textura de la pulpa* (UPOV TG/15/3 60):

a.1) Fina

a.2) Media

a.3) Basta

b. *Jugo de la pulpa* (UPOV TG/15/3 62):

b.1) Seca

b.2) Media

b.3) Jugosa

c. *Dulzor*

c.1) Ausente

c.2) Débil

c.3) Medio

c.4) Fuerte

d. *Dureza de la fruta con piel* (kg/cm^2): promedio de dos medidas tomadas con un penetrómetro con una punta de 11,3 mm de diámetro realizadas al mismo fruto sin haber retirado la epidermis.

e. *Dureza de la fruta sin piel* (kg/cm^2): promedio de dos medidas tomadas con un penetrómetro con una punta de 11,3 mm de diámetro en dos zonas opuestas de un solo fruto a las que se ha retirado la epidermis.

3.3.3.3 Análisis del zumo de las peras

Para su determinación se realizaron zumos sobre una muestra de cada accesión.

a. *pH*: medido con un pHmetro marca Crison mod. MicropH 2000.

b. *Ácido málico*: acidez total del zumo del fruto expresado como gramos de ácido málico/l. El procedimiento para determinar la acidez total es el descrito en los métodos oficiales de análisis para la valoración potenciométrica del zumo de uva, aunque modificando el cálculo para expresarlo como ácido málico, en lugar de tartárico, y que se describe a continuación.

Se tomaron 20 ml del zumo de pera exento de dióxido de carbono (la extracción se realiza inmediatamente antes de la valoración, en caso contrario es preciso burbujear para eliminar el gas) en un vaso de 100 ml de capacidad y se añadieron 30 ml de agua destilada. Posteriormente, se realizó la valoración con hidróxido sódico 0,1N hasta alcanzar un pH de 8,1 a 20 °C. La acidez total, expresada en meq/l se calculó como:

$$\text{Acidez total (meq/l)} = 10 \times V/2,$$

siendo V = ml de hidróxido sódico necesario para valorar la acidez.

La acidez total expresada como gramos de ácido málico/l se calculó como:

$$\text{Acidez total (g de ácido málico/l)} = 0,67 \times V/2$$

c. *Azúcares totales*: contenido en azúcares totales medido en grados Brix. Las mediciones se han realizado analizando el zumo con un polarímetro ATAGO ATC-1E (Brix 0-32%).

3.3.4 *Análisis estadísticos*

Para los análisis de la fenología y morfología del fruto, se utilizaron las poblaciones reconstruidas (RPPs) determinadas para los diploides por el programa STRUCTURE, y para los triploides las RPPs se estimaron de acuerdo con la posición en el dendrograma del coeficiente de Jaccard.

3.3.4.1 Parámetros individuales

Se estimaron para la fenología la centralización (media). Para los datos de los frutos se estimaron los parámetros de centralización (media) y de dispersión (mínimo, máximo, error típico de la media, y coeficiente de variación) para cada uno de los caracteres cuantitativos estudiados. Para los cualitativos hemos estimado el porcentaje de individuos que poseen una determinada característica.

3.3.4.2 Correlaciones

Se estimó la correlación (r de Pearson) para la fenología y morfología separadamente entre cada par de caracteres mediante el programa XLSTAT (Addinsoft, 2009), así como la correlación entre cada uno de ellos y las poblaciones reconstruidas después de determinar las más probables mediante el programa STRUCTURE 2.0 (Pritchard et al., 2000), la ploidía, y las coordenadas geográficas de donde se localizaron los genotipos. Se consideraron estadísticamente significativas las correlaciones que presentaron una probabilidad $P < 0,05$ o menor.

3.3.4.3 Análisis de la varianza

a) Fenología

Las variables de los estadios fenológicos se analizan mediante un ANOVA lineal ajustado al modelo:

$$Y_{ij} = \mu + R_j + \epsilon_{ij},$$

donde Y_{ij} es la observación de la RPP i (i de 1 hasta 3) en la repetición j ($j= 1$ hasta 58); μ media de todas las observaciones; R_j y ϵ_{ij} son los efectos de la RPP, y error de la observación ij , respectivamente. Para evaluar diferencias significativas ($P<0,05$) entre agrupaciones de genotipos para los estadios fenológicos, se realizó una comparación de medias mediante la prueba de Student-Neuman-Keul's (SNK) utilizando SPSS (IBM, 2009).

b) Morfología del fruto

Se realizó el análisis de varianza para los datos cuantitativos correspondientes a *Peso* (g), *Longitud* (mm), *Diámetro máximo* (DM, mm), *Relación longitud/diámetro* (Rella), *Distancia al diámetro máximo* (DDM, mm), *Dureza con piel* (kg/cm²), *Dureza sin piel* (kg/cm²), *Azúcares totales del zumo* (°Brix), *pH del zumo* y *Acido málico del zumo* (g/L). Para todos estos parámetros se aplicó un análisis de varianza con los datos desequilibrados de acuerdo con el siguiente modelo:

$$Y_{i(m)jk} = \mu + G_m + A_{i(m)} + X_j + (GX)_{mj} + \epsilon_{i(m)jk}$$

donde $Y_{i(m)jk}$ es la observación de la accesión i ($i = 1$ hasta 14) dentro del genotipo m ($m = 1$ hasta 117) en el año j ($j = 1$ hasta 5) y en la repetición k ($k = 2$ hasta 10); μ es la media de todas las observaciones; G_m , $A_{i(m)}$, X_j , $(GX)_{mj}$ y $\epsilon_{i(m)jk}$ son los efectos del Genotipo m , de la Accesión i dentro del Genotipo m , del Año j , de la interacción Genotipo*Año, y el error de la observación $i(m)jk$, respectivamente. Para evaluar diferencias significativas ($P<0,05$) entre agrupaciones de genotipos para los caracteres morfológicos cuantitativos, se realizó una comparación de medias mediante la prueba de SNK utilizando SPSS (IBM, 2009).

3.3.4.4 Formación de los cuartiles

Con la finalidad de establecer límites de clasificación entre los distintos niveles de los caracteres cuantitativos de los estadios fenológicos y datos morfológicos, se determinaron los cuartiles.

3.3.4.5 Análisis de Componentes Principales

Para determinar los principales orígenes de variabilidad, y así explicar la variación fenotípica mediante un menor número de variables, se calcularon las Componentes Principales a partir de la matriz de correlación de Pearson para los estadios fenológicos, las variables morfológicas, los alelos, las poblaciones reconstruidas (RPPs) y la ploidía utilizando el programa XLSTAT (Addinsoft, 2009). Las RPPs fueron determinadas para los diploides por el programa STRUCTURE, y para los triploides las RPPs se estimaron de acuerdo con la posición en el dendrograma del coeficiente de Jaccard.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Marcadores Moleculares SSRs

4.1.1 Variabilidad genética

Los siguientes SSRs fueron desarrollados en manzano: CH01d03, CH01d08, CH01d09, CH01f07a, CH02c09, CH02c11, CH03d12, CH03g07, CH04c07, CH04e03, CH05a02 y CH05c06 (Liebhard et al., 2002); CH02b10 y CH02d11 (Gianfranceschi et al., 1998); CH-Vf1 (Vinatzer et al., 2004); y GD142 y GD147 (Hokanson et al., 1998). Estos SSRs se han transferido con éxito en este estudio al peral, como habían constatado ya diversos autores (Yamamoto et al., 2002a, b, c; Pierantoni et al., 2004; Evans et al., 2009; Patocchi et al., 2009; Bassil et al., 2009; Dos Santos et al., 2011). Esto confirma la conservación de los loci entre el manzano y el peral (Wünschy Hormaza, 2007). Los SSRs EMPc11 y EMPc117 fueron desarrollados por Fernández-Fernández et al. (2006) para *Pyrus* spp., y también presentaron buenos resultados en la amplificación.

El locus CH05a02 presenta dos grupos de ligamiento en peral (grupos 8 y 15), tal y como describieron Pierantoni et al (2004), situación diferente a lo que ocurre en manzano, que pertenece solamente al grupo 8 (Liebhard et al., 2002). Este loci ha podido ser dividido en dos locus (CH05a02a y CH05a02b) por la existencia de dos rangos alélicos diferenciados, uno que comprende los alelos entre 103 y 109 (asignados al locus CH05a02a), y otro entre los alelos 111 y 131 (asignados al locus CH05a02b).

Se identificaron un total de 147 genotipos diferentes, 127 correspondientes a la colección del CIAM y 20 a las variedades comerciales de referencia. Por tanto, las 221 accesiones locales estudiadas de la colección del CIAM se han agrupado en 127 genotipos, lo que significa el 43% de clonalidad en el Banco de Germoplasma. Algunas accesiones recogidas en diferentes localidades con diferentes nombres, mostraron el mismo genotipo (Tabla 17). Este valor fue menor que el descrito por Bassil et al. (2008), que encontraron un 50% de clonalidad cuando identificaron cultivares de peral históricos en dos parques nacionales en EE.UU., y similar a la clonalidad en cultivares de manzana de España (Pereira-Lorenzo et al., 2008). Estos valores fueron más bajos que los encontrados en castaño, con más de 60% de clonalidad en las plantaciones de árboles injertados con 300 años de antigüedad (Pereira-Lorenzo et al., 2006, 2010).

En la colección del CIAM, 42 genotipos estaban repetidos, agrupando 136 accesiones, de las cuales 131 eran autóctonas (Tabla 17). Cinco cultivares comerciales

fueron incluidos en la colección con otros nombres (introgresiones), con un total de 8 accesiones (4%), ‘Williams’ (3 accesiones), ‘Blanquilla’ (1 de muestra), ‘Mantecosa Hardy’ (2), ‘Castell’ (1) y ‘Roma’ (1). En otras colecciones de germoplasma se ha demostrado la presencia de introgresiones, como en la colección de cultivares de manzano del CIAM (Ramos Cabrer et al., 2007), y en la colección de vid de la EVEGA (Díaz-Losada et al., 2010). En poblaciones naturales de castaño, también se ha demostrado la presencia de híbridos interespecíficos con especies asiáticas obtenidos en los años 50 en Galicia (Pereira-Lorenzo et al., 2010).

En algunos grupos, las accesiones del CIAM tenían nombres que no correspondían con el grupo de clasificación por SSRs (Tabla 17). Por ejemplo, el genotipo del grupo 32 lo presentaron 4 accesiones, una de ellas una variedad comercial (‘Williams’). Una de las tres denominaciones gallegas no presentaba nombre (‘Desconocida’), y las otras dos tenían nombres erróneos, ‘Pera Manteca’ y ‘Urraca Grande’. El nombre del grupo es la variedad comercial ‘Williams’, por su antigüedad y reconocimiento mundial.

Con el fin de que cada cultivar presente en el CIAM tuviera una denominación diferente se adoptaron distintas denominaciones, siguiendo los siguientes criterios: i) elegir el nombre más repetido del grupo; ii) evitar la repetición con otro cultivar; iii) correspondencia con las características recogidas en la bibliografía para ese genotipo; iv) cuando no se pudo discernir entre genotipos para un mismo nombre se numeraron; y v) cuando no se disponía de una denominación adecuada se adoptó la numeración existente en el Banco, utilizando como referencia del grupo siempre el número de la accesión recogida en primer lugar

Tabla 17. Repeticiones encontradas entre 136 accesiones del CIAM (Xunta de Galicia) y comerciales de referencia utilizando 19 marcadores SSRs.

Grupo	Nº de accesiones	Accesiones	Denominaciones de las accesiones	Denominación adoptada
1	5	CO2, CO45, PT120, PT122, LU199	Sevillana, Sevillana, Sevillana, Urraca Blanca, Rabuda (Pera de Pozo)	Sevillana
2	2	CO60, LU188	Pera Lourenza, Santiaguesa	Lourenzá
3	2	CO111, CO113	Agosto-Septiembre, De Agosto	De Agosto-Septiembre
4	2	CO102, PT121	Pera de San Luis, DCN*	San Luis
5	4	CO27, CO43, CO64, OU221	Manteca Blanca Grande, Manteca Blanca Agosto, De Julio, DCN	Manteca Blanca Grande
6	3	CO107, LU170, OU230	Manteca, DCN, DCN	CIAM CO107
7	2	PT152, LU178	Pera Compota, DCN	Compota1
8	13	CO7, CO15, CO33, CO53, CO57, CO68, CO80, CO81, CO91, CO105, CO112, PT117, PT146	Urraca Pequeña, Urraca Pequeña, Urraca Pequeña, Urraca Pequeña Agosto, Urracas, Urraca, Urraca Blanca, DCN, Urraca, Urraca, Peros de Agosto-Septiembre, Urraca, Urraca Grande	Urraca
9	3	CO99, PT143, OU239	Moi Boa, Grande Harinosa, Parecida Williams	CIAM CO99
10	2	CO108, CO109	De Septiembre, De Octubre	De Septiembre-Octubre
11	3	CO29, PT119, LU173	Verdilarga, Verdilarga, Amarilla Agosto.	Verdilarga
12	7	CO21, CO56, CO66, CO101, CO104, PT114, OU215	Manteca Oro, Manteca Oro, Manteca Oro, Duquesa de Angulema, Conseridonia, DCN, DCN	Manteca Oro1
13	4	CO5, CO16, CO32, CO36	Barburiña, Donguindo, Pera Fidalga (Donguindo), Pera Limón	Donguindo
14	3	OU216, OU236, OU246	Verdeñas, Verdeña, DCN	Verdeñas
15	2	CO30, CO54	Pera de Junio, Pera Blanca Primeros de Julio	CIAM CO30
16	14	CO3, CO6, CO8, CO44, CO65, CO76, CO82, CO93, PT115, PT136, PT156, LU180, LU190, OU219	Manteca Dorada, Manteca Morena, Mantecosa Grande, Manteca Oscura, Manteca Oscura, Manteca, DCN, DCN, Manteca Oscura, Bergamota, San Roque, Donguindo, DCN, Pereira	Manteca Oscura
17	4	PT116, PT155, OU220, OU240	Pera San Juan, DCN, San Xoan, Perifotes	De San Juan1
18	2	CO17, CO23	Rabuda (Pé de Col), Rabuda	Rabuda1
19	2	CO104, PT147	Conseridonia, Campana	Conseridonia
20	3	CO84, PT133, PT140	DCN, Rabo Largo, DCN	Rabo Largo
21	3	CO1, CO73, LU188	Pera de Julio, Barburiñas, Santiaguesa	Barburiñas
22	2	CO89, PT154	DCN, DCN	CIAM CO89

* Desconocida.

Tabla 17 (Continuación). Repeticiones encontradas entre 136 accesiones del CIAM (Xunta de Galicia) y comerciales de referencia utilizando 19 marcadores SSRs.

Grupo	Nº de accesiones	Accesiones	Denominaciones de las accesiones	Denominación adoptada
23	3	CO10, CO41, PT166	San Benito 18 Julio, Amarilla Junio, Pera Roja	San Benito
24	3	PT168, LU193, LU194	Manteca Septiembre, Pera Canela, Pera Septiembre	Manteca Septiembre
25	2	OU226, OU230	DCN*, DCN	CIAM OU226
26	2	CO92, PT145	Urraca, Vagin	Urraca2
27	3	CO52, LU205, OU245	Pera Libra, DCN, Pereiro	Libra
28	2	CO11, LU195	Jugosa Tardía, De Septiembre	CIAM CO11
29	3	LU197, LU203, LU211,	San Lucas, Pardas de Noviembre, Pera Espín	Espín
30	4	LU191, LU192, OU241, OU243	De Agosto, Pera de Santiago, DCN, DCN	De Agosto1
31	2	Castell, OU224	Castell, DCN	Castell
32	4	Williams, CO20, CO59, CO78	Williams, DCN, Pera Manteca, Urraca Grande	Williams
33	2	Blanquilla, OU237	Blanquilla, Verdeales	Blanquilla
34	2	CO37, CO77	Canela Octubre, Parece Clairgeau	Canela Octubre
35	2	LU209, OU232	DCN, DCN	CIAM LU209
36	2	Roma, OU235	Roma, Perón Navidad	Roma
37	2	LU174, OU227	De Agosto, DCN	De Agosto2
38	2	CO74, LU186	Manteca Oscura, De Agua	De Agosto3
39	2	CO39, LU208	Suiza Desección, DCN	CIAM CO39
40	3	Mantecosa Hardy, CO110, PT134	Mantecosa Hardy, DCN, DCN	Mantecosa Hardy
41	2	CO96, PT144	Rabuda, Manteca 1ª de Agosto	Rabuda3
42	2	CO31, LU202	Compota Tardía, Rabuda de Compota	Compota2

* Desconocida.

Para todos los loci estudiados fue posible detectar individuos diploides y triploides. Todos los loci mostraron al menos un genotipo con tres alelos. CH01d09 y CH02c11 presentaron 18 y 19 genotipos, respectivamente, con tres alelos. CH04e03 y EMPc117 solo presentaron un genotipo cada uno con tres alelos. Se han encontrado 26 genotipos de 147 (18%) que presentaron un solo locus con un tercer alelo. Se ha comprobado que el tercer alelo también existía en otros cultivares diploides y triploides. Entre las referencias utilizadas en este estudio, ‘Castell’, ‘Péndula’, ‘Chanticleer’, ‘Hosui’, y ‘Roma’ han presentado un alelo extra en un solo locus (Tabla 18), ya descrito por Evans et al. (2009) para ‘Chanticleer’, ‘Hosui’ y ‘Péndula’.

Otros 27 genotipos de 147 (18%) presentaron tres alelos en más de un locus. En total, encontramos 94 diploides (64%) y 53 triploides (36%) de un total de 147 genotipos. En cultivares gallegos, fueron 79 (62%) diploides y 48 (38%) triploides de 127 genotipos.

El porcentaje de triploides fue más alto que el encontrado en las variedades locales de manzana de la misma zona con un 29% (Ramos-Cabrer et al., 2007), y superior al porcentaje estimado en cultivares de manzano en Norteamérica con un 6% (Einset y Lamb, 1951), así como respecto a progenies de los padres diploides con un 0,3% (Einset, 1948, 1952).

Tabla 18. Alelos (pb) encontrados en 20 loci (19 SSRs) para los cultivares de peral utilizados como referencia.

Cultivar	GD147		EMPc11		CH03g07		CH04e03		CH01d08		CH05c06		EMPc117		CH01f07a		CH02b10		CH01d09			
Abbe Fetel	125	125	142	149	242	245	180	198	286	294	87	91	117	117	182	190	126	126	151	153		
Blanquilla	133	135	138	142	232	266	180	180	278	294	87	111	117	117	190	190	124	124	140	143		
Castell	135	154	136	142	244	244	180	180	239	278	87	107	88	113	184	194	205	124	155	130	134	
Doyenné du Comice	125	131	149	153	228	232	180	198	276	282	87	87	115	115	182	184		132	136	151	157	
Conference	125	125	138	149	226	256	180	205	276	282	87	97	117	119	182	192		122	126	157	157	
Chanticleer	139	139	144	171	215	215	177	188	286	294	97	107	91	107	194	199		118	147	132	132	
Ercolini	125	133	138	149	256	266	180	180	278	282	93	111	115	117	184	190		130	136	140	157	
General Leclerc	125	125	138	142	228	232	180	205	276	276	87	87	115	115	182	184		120	120	140	151	
Hosui	137	137	140	143	250	250	188	188	280	280	83	103	93	105	181	207		122	132	140	155	
Dr. Jules Guyot	125	125	138	149	232	242	198	205	239	286	91	97	115	115	177	190		120	126	149	153	
Mantecosa Hardy	125	125	149	153	242	256	180	180	276	282	87	91	115	119	182	188		128	132	130	161	
Max Red Bartlett	125	135	149	149	226	242	180	205	239	276	87	91	115	115	177	184		120	120	149	157	
Nijisseiki	135	135	144	153	252	258	188	188	280	280	83	105	105	105	181	181		122	132	155	155	
Passe Crassane	125	129	149	149	226	242	180	180	276	282	87	107	99	115	182	182		130	132	153	157	
Péndula	131	133	123	123	220	222	180	180	276	296	305	114	117	93	101	184	192	112	138	132	151	
Precoce Morettini	125	125	138	149	242	256	180	205	276	282	91	93	115	115	177	190		120	130	140	157	
Roma	127	133	138	144	226	232	248	180	205	276	278	294	87	107	99	115	190	207	120	132	136	140
Shinseiki	135	135	142	153	252	258	188	188	280	280	83	105	105	105	181	181		122	132	155	155	
Tosca Mediana	125	131	138	149	226	266	180	205	239	282	91	93	115	115	190	194		120	130	149	157	
Williams	125	125	149	149	226	242	180	205	239	276	87	91	88	115	177	184		120	126	149	157	

Cultivar	CH-Vf1		CH03d12		CH04c07		CH05a02				GD142		CH02c11		CH02c09		CH02d11		CH01d03					
							a		b															
Abbe Fetel	128	128	108	112	116	124	105	109	115	117		158	168	215	217	245	245	101	117	130	147			
Blanquilla	132	152	108	125	-	-	103	109	117	121		150	166	217	239	243	245	95	111	130	145			
Castell	130	134	110	112	132	149	103	105	111	111		162	166	223	223	229	249	117	121	136	145			
Doyenné du Comice	138	138	108	112	116	116	103	109	113	117		154	158	215	227	245	245	117	117	130	149			
Conference	132	150	108	125	149	149	103	107	113	117		162	168	215	237	245	245	111	117	134	136			
Chanticleer	130	154	91	108	112	112	-	-	113	119	127	188	188	223	231	251	253	101	103	136	136			
Ercolini	128	132	91	108	94	132	103	103	113	117		150	166	215	217	237	245	95	117	130	134			
General Leclerc	150	150	108	125	130	149	103	103	113	117		168	174	227	239	237	245	109	117	132	149			
Hosui	130	158	162	97	97	100	105	105	111	113		140	143	227	237	-	-	99	115	149	151			
Dr. Jules Guyot	128	148	108	108	149	149	103	103	111	115		168	168	215	219	237	245	109	117	130	149			
Mantecosa Hardy	140	140	112	125	104	104	107	107	113	117		176	184	227	227	245	245	105	117	134	136			
Max Red Bartlett	150	150	108	125	132	149	103	103	111	113		168	168	219	239	237	245	-	-	132	149			
Nijisseiki	130	130	93	112	94	100	105	105	113	113		140	143	225	237	249	255	115	115	151	151			
Passe Crassane	128	150	125	125	116	116	107	109	113	113		166	168	215	227	245	245	117	117	132	149			
Péndula	130	132	95	103	124	126	105	107	113	125		147	166	223	227	233	245	123	123	193	193			
Precoce Morettini	132	148	108	125	132	132	103	103	113	113		150	166	217	219	237	237	111	117	130	132			
Roma	138	148	152	108	125	124	124	105	109	111	121	123	158	168	217	239	237	245	95	111	121	130	140	149
Shinseiki	130	130	-	-	94	100	105	105	113	113		140	143	225	237	247	255	115	115	149	149			
Tosca Mediana	132	148	-	-	-	-	103	103	111	113		150	166	217	239	237	245	109	117	130	136			
Williams	150	150	108	125	132	149	103	103	111	113		168	168	219	239	237	245	109	111	132	149			

Cuando se implementó un primer análisis con el programa informático Micro-Checker para detectar posibles alelos nulos en los genotipos diploides, se encontraron en los loci CH02b10, CH03d12, CH04c07, CH-Vf1 y EMPc117. El locus CH02d11 está ligado al locus CH01d08 como señalaron Yamamoto et al. (2007). Los siete loci (CH01d08, CH02b10, CH02d11, CH03d12, CH04c07, CH-Vf1 y EMPc117) fueron eliminados de algunos análisis. Debido a la limitación de análisis con los genotipos triploides, hemos asumido que los resultados de los loci basados en diploides también podrían aplicarse a los triploides como señalaron Lo et al. (2009) (Tabla 19).

Tabla 19. Estimaciones de alelos nulos mediante el programa informático Micro-Checker [Chakraborty et al. (1992); Brookfield (1996)] en genotipos de peral utilizando 19 SSRs.

Locus	Presencia de alelos nulos	Estimador de alelos nulos			
		Oosterhout	Chakraborty	Brookfield 1	Brookfield 2
CH01d03	no	0,00	0,00	0,00	0,00
CH01d08 [‡]	no	0,04	0,04	0,04	0,04
CH01d09	no	0,02	0,02	0,02	0,02
CH01f07a	no	0,02	0,03	0,02	0,02
CH02b10	si	0,10	0,12	0,10	0,10
CH02c09	no	0,02	0,02	0,02	0,02
CH02c11	no	-0,03	-0,02	-0,02	0,00
CH02d11 [‡]	no	0,03	0,04	0,03	0,07
CH03d12	si	0,09	0,10	0,08	0,13
CH03g07	no	-0,01	-0,01	-0,01	0,00
CH04c07	si	0,18	0,24	0,17	0,25
CH04e03	no	0,07	0,08	0,04	0,04
CH05a02a	no	0,02	0,02	0,02	0,02
CH05a02b	no	0,05	0,05	0,04	0,08
CH05c06	no	-0,06	-0,05	-0,05	0,00
CH-Vf1	si	0,09	0,10	0,08	0,08
EMPc11	no	-0,05	-0,04	-0,04	0,00
EMPc117	si	0,15	0,18	0,14	0,14
GD142	no	0,01	0,01	0,01	0,01
GD147	no	0,03	0,02	0,02	0,02

[‡] Locus ligados.

En este trabajo se han detectado un total de 331 alelos para las 221 accesiones y 20 cultivares comerciales de referencia en los 20 loci estudiados (Tabla 20). Solamente para los cultivares utilizados como referencia, se detectaron 202 alelos. Los loci más polimórficos fueron CH01d03 con 24 alelos, CH03g07 con 23, CH02b10 y GD142 con 22, CH02c11 y CH03d12 con 21, y CH01d09 con 20. El menos polimórfico fue CH05a02a (4), seguido por CH04e03 (7) y CH05a02b (10).

Tabla 20. Rango y tamaños alélicos (pb) para 20 loci polimórficos en 221 accesiones de peral (*Pyrus* spp.) de Galicia y 20 comerciales de referencia.

Locus	Rango Alélico	Tamaño alélico (pb)	Total
CH01d03	130-201	130 ¹ , 132 ¹ , 134 ¹ , 136 ¹ , 138 ^G , 140 ¹ , 145 ¹ , 147 ¹ , 149, 151, 153 ^G , 155 ^G , 157 ^G , 161 ^G , 163 ^G , 167 ^G , 171 ^G , 181 ^G , 183 ^G , 187 ^G , 189 ^G , 193, 195 ^G , 201 ^G	24
CH01d08 [†]	239-305	239 ¹ , 276, 278 ¹ , 280, 282 ¹ , 284 ^G , 286, 288 ^G , 290 ^G , 294, 296 ² , 300 ^G , 305 ²	13
CH01d09	119-179	119 ^G , 128 ^G , 130 ¹ , 132, 134 ¹ , 136 ^G , 138 ^G , 140, 143 ¹ , 145 ^G , 147 ^G , 149 ¹ , 151, 153 ¹ , 155, 157 ¹ , 159 ^G , 161 ¹ , 165 ^G , 179 ^G	20
CH01f07a	173-219	173 ^G , 177 ¹ , 181 ⁴ , 182 ¹ , 184, 186 ^G , 188 ¹ , 190 ¹ , 192, 194, 197 ^G , 199, 201 ^G , 205 ¹ , 207, 209 ^G , 213 ^G , 219 ^G	18
CH02b10 [‡]	112-161	112 ² , 116 ^G , 118, 120 ¹ , 122, 124 ¹ , 126 ¹ , 128 ¹ , 130 ¹ , 132, 134 ^G , 136 ¹ , 138, 141 ^G , 143 ^G , 145 ^G , 147 ^G , 149 ^G , 151 ^G , 153 ^G , 155 ¹ , 161 ^G	22
CH02c09	229-283	229 ¹ , 231 ^G , 233 ² , 235 ^G , 237 ¹ , 239 ^G , 241 ^G , 243 ¹ , 245, 247, 249 ¹ , 251 ^G , 253 ³ , 255 ⁴ , 267 ^G , 283 ^G	16
CH02c11	201-249	201 ^G , 205 ^G , 207 ^G , 211 ^G , 215 ¹ , 217 ¹ , 219 ¹ , 221 ^G , 223 ¹ , 225, 227, 229 ^G , 231, 233 ^G , 235 ^G , 237, 239 ¹ , 241 ^G , 245 ^G , 247 ^G , 249 ^G	21
CH02d11 [†]	95-129	95 ¹ , 99, 101, 103, 105 ¹ , 107 ^G , 109 ¹ , 111 ¹ , 113 ^G , 115, 117 ¹ , 119 ^G , 121 ¹ , 123 ² , 127 ^G , 129 ^G	16
CH03d12 [‡]	91-159	91, 93 ⁴ , 95 ² , 97, 101 ^G , 103, 106 ^G , 108 ¹ , 110 ¹ , 112, 114 ^G , 116 ^G , 118 ^G , 120 ^G , 122 ^G , 125 ¹ , 132 ^G , 134 ^G , 142 ^G , 157 ^G , 159 ^G	21
CH03g07	204-268	204 ^G , 211 ^G , 215 ³ , 220, 222 ² , 226 ¹ , 228 ¹ , 232 ¹ , 234 ^G , 236 ^G , 238 ^G , 242 ¹ , 244 ¹ , 245 ¹ , 246 ^G , 248 ¹ , 250, 252, 256 ¹ , 258, 264 ^G , 266 ¹ , 268 ^G	23
CH04c07 [‡]	80-149	80 ^G , 94, 100, 102 ^G , 104 ¹ , 110 ^G , 112, 114 ^G , 116 ¹ , 120 ^G , 122 ^G , 124, 126, 130 ¹ , 132 ¹ , 134 ^G , 136 ^G , 145 ^G , 149 ¹	19
CH04e03	177-205	177 ³ , 180, 188, 196 ^G , 198 ¹ , 200 ^G , 205 ¹	7
CH05a02a	103-109	103 ¹ , 105, 107, 109 ¹	4
CH05a02b	111-131	111, 113, 115 ¹ , 117 ¹ , 119, 121 ¹ , 123 ¹ , 125, 127 ³ , 131 ^G	10
CH05c06	83-117	83 ⁴ , 87 ¹ , 89 ^G , 91 ¹ , 93 ¹ , 95 ^G , 97, 101 ^G , 103, 105, 107, 111 ¹ , 114 ² , 117 ²	14
CH-Vf1 [‡]	128-162	128 ¹ , 130, 132, 134 ¹ , 138 ¹ , 140 ¹ , 142 ^G , 146 ^G , 148 ¹ , 150 ¹ , 152 ¹ , 154, 156 ^G , 158 ⁴ , 162 ⁴	15
EMPc11	123-171	123 ² , 134 ^G , 136 ¹ , 138 ¹ , 140, 142, 143 ⁴ , 144, 146 ^G , 149 ¹ , 151 ^G , 153, 155 ^G , 157 ^G , 171 ³	15
EMPc117 [‡]	84-139	84 ^G , 88 ¹ , 91, 93, 97 ^G , 99 ¹ , 101, 103 ^G , 105, 107, 109 ^G , 111 ^G , 113 ¹ , 115 ¹ , 117 ¹ , 119 ¹ , 121 ^G , 123 ^G , 139 ^G	19
GD142	138-188	138 ^G , 140, 143, 147, 150 ¹ , 152 ^G , 154 ¹ , 156 ^G , 158 ¹ , 160 ^G , 162 ¹ , 164 ^G , 166, 168 ¹ , 170 ^G , 172 ^G , 174 ¹ , 176 ¹ , 178 ^G , 180 ^G , 184 ¹ , 188 ³	22
GD147	117-162	117 ^G , 125 ¹ , 127 ¹ , 129 ¹ , 131, 133, 135, 137, 139, 143 ^G , 154 ¹ , 162 ^G	12
Total			331

[‡] Locus ligados, [†] Locus con alelos nulos detectados con Micro-Checker (Van Oosterhout et al., 2004). Alelos específicos para: ^GCultivares del CIAM, ¹*P. communis*, ²*P. salicifolia*, ³*P. calleryana*, y ⁴*P. pyrifolia*.

Se encontraron un total de 255 alelos específicos, 101 para cultivares de referencia de *P. communis*, 10 en *P. salicifolia*, 6 en *P. calleryana* y 7 en *P. pyrifolia*. En los perales de la colección del CIAM (Galicia) se encontraron 131 alelos específicos (Tablas 20 y 21).

El mayor número de alelos por provincia se encontró para A Coruña (271), seguida por las provincias de Lugo (189), Pontevedra (183), y Ourense (166). Los cultivares de referencia presentaron 202 alelos (Tabla 22).

Tabla 21. Número de alelos específicos para 20 loci polimórficos en genotipos de peral de Galicia y cultivares comerciales de referencia.

SSRs	Galicia	<i>P. communis</i>	<i>P. salicifolia</i>	<i>P. calleryana</i>	<i>P. pyrifolia</i>	Total
CH01d03	14	7	-	-	-	21
CH01d08 [†]	4	3	2	-	-	9
CH01d09	9	7	-	-	-	16
CH01f07a	7	5	-	-	1	13
CH02b10 [‡]	10	7	1	-	-	18
CH02c09	7	4	1	1	1	14
CH02c11	11	5	-	-	-	16
CH02d11 [†]	5	6	1	-	-	12
CH03d12 [‡]	12	3	1	-	1	17
CH03g07	8	9	1	1	-	19
CH04c07 [‡]	9	5	-	-	-	14
CH04e03	2	2	-	1	-	5
CH05a02a	-	2	-	-	-	2
CH05a02b	2	4	-	1	-	7
CH05c06	3	4	2	-	1	10
CH-Vfl [‡]	3	7	-	-	2	12
EMPc11	5	3	1	1	1	11
EMPc117 [‡]	8	6	-	-	-	14
GD142	9	8	-	1	-	18
GD147	3	4	-	-	-	7
Total	131	101	10	6	7	255

[‡] Locus ligados, [†] Locus con alelos nulos detectados con Micro-Checker (Van Oosterhout et al., 2004).

Tabla 22. Número total de alelos para 20 loci polimórficos en genotipos de peral de Galicia y comerciales de referencia.

Locus	Comerciales N ¹ =20	A Coruña N=75	Lugo N=21	Ourense N=12	Pontevedra N=19	Galicia N=127	Total N=147
CH01d03	10	19	14	11	13	24	24
CH01d08 [†]	9	8	8	7	7	11	13
CH01d09	11	18	13	12	13	20	20
CH01f07a	11	16	12	9	11	17	18
CH02b10 [‡]	13	17	12	7	12	20	22
CH02c09	10	12	9	9	11	13	16
CH02c11	9	17	12	10	12	20	21
CH02d11 [†]	11	14	11	11	7	15	16
CH03d12 [‡]	9	16	10	6	9	19	21
CH03g07	15	19	11	9	13	21	23
CH04c07 [‡]	10	14	10	11	8	18	19
CH04e03	5	5	3	4	4	6	7
CH05a02a	4	4	4	4	4	4	4
CH05a02b	9	8	6	6	8	9	10
CH05c06	11	10	8	9	5	11	14
CH-Vfl [‡]	12	12	9	8	9	12	15
EMPc11	10	12	9	8	9	12	15
EMPc117 [‡]	11	19	8	9	10	19	19
GD142	13	19	11	10	12	20	22
GD147	9	12	9	6	8	12	12
Total	202	271	189	166	183	303	331

Número de genotipos, [‡] Locus ligados, [†] Locus con alelos nulos detectados con Micro-Checker (Van Oosterhout et al., 2004).

4.1.2 Frecuencia alélica

4.1.2.1 CH01d03

Este microsatélite inicialmente fue desarrollado para manzano por Liebhard et al. (2002). En nuestro estudio se detectaron 24 alelos, en un rango de 130-201 pb. Los alelos que presentaron una mayor frecuencia, en orden decreciente, fueron: 136, 149, 134, 132, 130, 151, 145, 157, 140, 147, 153, 167, 183, 193, 195, 161, 163, 187, 138, 155, 171, 181, 189, y 201 (Figura 12).

En total se detectaron 18 alelos raros: los alelos 138, 155, 163, 183, 189 en A Coruña; el alelo 153 en A Coruña y Ourense; el alelo 161 en A Coruña y Pontevedra; el alelo 140 en A Coruña y cultivares de referencia; el alelo 151 en Lugo y Ourense; los alelos 171, 181, 193 y 201 en Lugo; el alelo 145 en Coruña y Lugo; el alelo 147 en A Coruña, Lugo, Ourense y cultivares de referencia; el alelo 157 en A Coruña, Lugo y Ourense; el alelo 167 en A Coruña, Ourense y Pontevedra; el alelo 195 en A Coruña y Pontevedra (Figura 12).

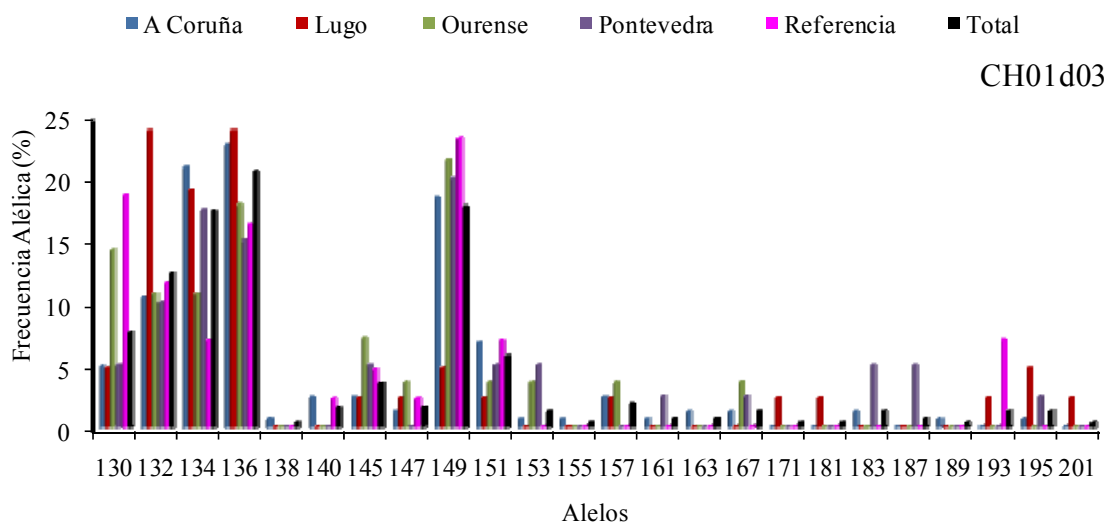


Figura 12. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH01d03.

Los alelos 138, 155, 163 y 189 solo se encontraron en A Coruña, los alelos 171, 181 y 201 en Lugo y el alelo 187 en Pontevedra.

Además de aquellos que solo se detectaron en una provincia y no en el resto de zonas, el alelo 140 no fue detectado en Lugo Ourense y Pontevedra; el alelo 147 en

Pontevedra; los alelos 153 y 167 en Lugo y en las comerciales de referencia; el alelo 157 en las comerciales de referencia y Pontevedra; los alelos 161 y 183 en las comerciales de referencia, Lugo y Ourense; el alelo 193 en A Coruña, Ourense y Pontevedra; el alelo 195 en Ourense y las comerciales de referencia (Figura 12)

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en negrita los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (19): 130, 132, 134, 136, **138**, 140, 145, 147, 149, 151, 153, **155**, 157, 161, **163**, 167, 183, **189**, 195.

Lugo (14): 130, 132, 134, 136, 145, 147, 149, 151, 157, **171**, **181**, 193, 195, **201**.

Ourense (11): 130, 132, 134, 136, 145, 147, 149, 151, 153, 157, 167.

Pontevedra (13): 130, 132, 134, 136, 145, 149, 151, 153, 161, 167, 183, **187**, 195

Variedades comerciales de referencia (10): 130, 132, 134, 136, 140, 145, 147, 149, 151, 193.

4.1.2.2 CH01d08

Este microsatélite inicialmente fue desarrollado para manzano por Liebhard et al. (2002) y posteriormente estudiado en peral por Pierantoni et al. (2004), Patocchi et al. (2009), Evans et al. (2009) y Bassil et al. (2009), siendo los rangos alélicos identificados por estos autores para el peral: 250-300, 244-299, 239-321 y 244-290, respectivamente.

En nuestro estudio se detectaron 13 alelos, en un rango de 239-305 pb. Los alelos que presentaron una mayor frecuencia, en orden decreciente, fueron: 276, 278, 282, 286, 280, 239, 294, 290, 284, 288, 296, 300, y 305 (Figura 13).

Se encontraron un total de 8 alelos raros: el alelo 239 en A Coruña, Lugo y Ourense; los alelos 280 y 284 en A Coruña; el alelo 288 en Pontevedra; el alelo 290 en A Coruña y Lugo; los alelos 296 y 305 en las variedades de referencia; y el alelo 300 en Ourense (Figura 13).

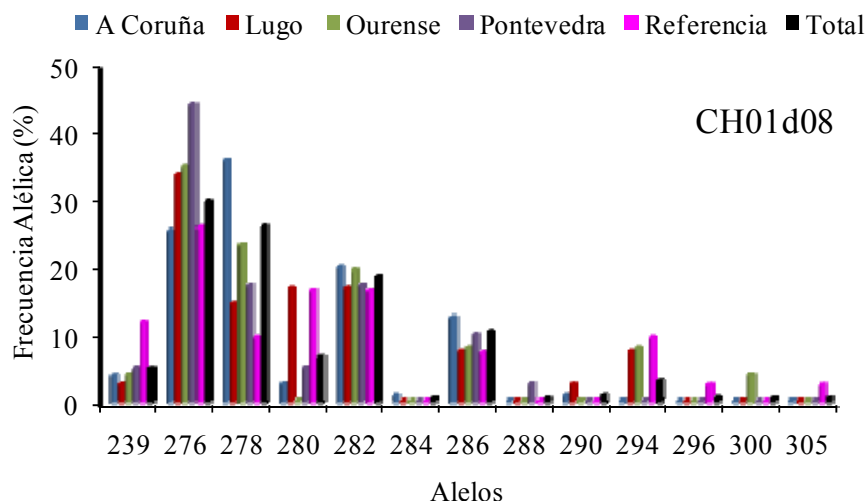


Figura 13. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH01d08.

El alelo 284 solo se presentó en A Coruña, el 288 en Pontevedra, el 296 y el 305 en las variedades comerciales de referencia y el 300 en Ourense. Además de los específicos de cada provincia, no estuvo presente el alelo 280 en Ourense; el alelo 290 en Ourense, Pontevedra y las comerciales de referencia; y el alelo 294 en A Coruña y Pontevedra (Figura 13).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en **negrita** los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (8): 239, 276, 278, 280, 282, **284**, 286, 290.

Lugo (8): 239, 276, 278, 280, 282, 286, 290, 294.

Ourense (7): 239, 276, 278, 282, 286, 294, **300**.

Pontevedra (7): 239, 276, 278, 280, 282, 286, **288**.

Variedades comerciales de referencia (9): 239, 276, 278, 280, 282, 286, 294, **296**, **305**.

4.1.2.3 CH01d09

Este microsatélite fue desarrollado en manzano por Liebhard et al. (2002) y posteriormente estudiado en peral por Evans et al. (2009) y Bassil et al. (2009), quienes identificaron unos rangos alélicos de 122-172 pb y 132-158 pb, respectivamente. En este trabajo, el rango encontrado fue 119-179 pb.

En total se identificaron 20 alelos en este estudio. Los alelos más frecuentes fueron, de forma decreciente: 140, 130, 138, 157, 151, 153, 155, 149, 134, 143, 136, 159, 119, 161, 132, 147, 165, 128, 145, y 179 (Figura 14).

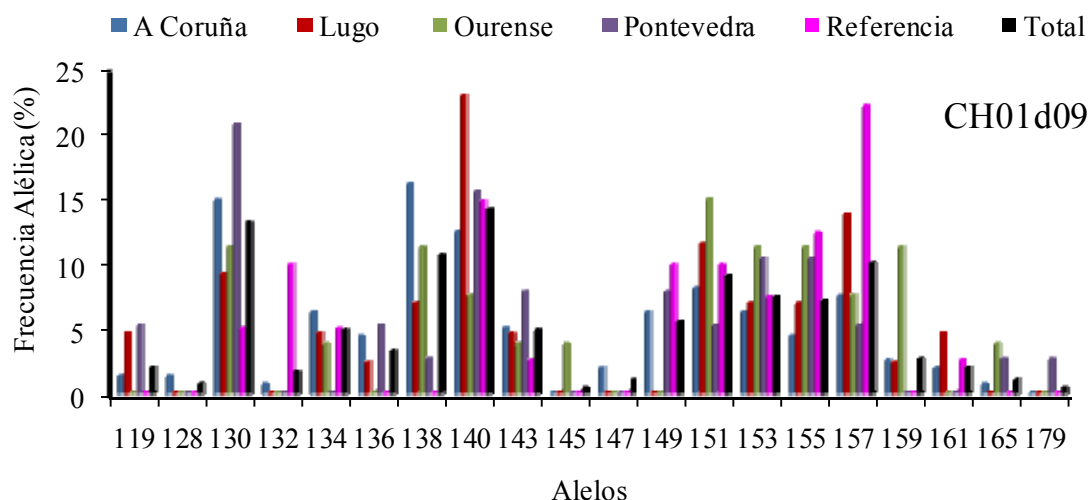


Figura 14. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH01d09.

Se han detectado un total de 14 alelos raros: los alelos 119, 128, 132, 147 y 155 en A Coruña; los alelos 134 y 145 en Ourense; los alelos 138 y 179 en Pontevedra; los alelos 136 y 159 en A Coruña y Lugo; el alelo 143 en Ourense y las comerciales de referencia; el alelo 161 en A Coruña y las comerciales de referencia; el alelo 165 en A Coruña, Ourense y Pontevedra (Figura 14).

Los alelos 128 y 147 solo se presentaron en A Coruña, el 145 en Ourense y el 179 en Pontevedra. Además de los alelos exclusivos de una determinada provincia, que no se presentaron en el resto de poblaciones, tampoco se presentaron los siguientes alelos: los alelos 119 y 136 en Ourense y las comerciales de referencia; el alelo 138 en las variedades comerciales de referencia; el alelo 132 en Lugo, Ourense y Pontevedra; el alelo 134 en Pontevedra; el alelo 149 en Lugo y Ourense; el alelo 159 en Pontevedra y las comerciales de referencia; el alelo 161 en Ourense y Pontevedra; y el alelo 165 en Lugo y las comerciales de referencia (Figura 14).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en **negrita** los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (18): 119, **128**, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 143, **147**, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 165.

Lugo (13): 119, 130, 134, 136, 138, 140, 143, 151, 153, 155, 157, 159, 161.

Ourense (12): 130, 134, 138, 140, 143, **145**, 151, 153, 155, 157, 159, 165.

Pontevedra (13): 119, 130, 136, 138, 140, 143, 149, 151, 153, 155, 157, 165, **179**.

Variedades comerciales de referencia (11): 130, 132, 134, 140, 143, 149, 151, 153, 155, 157, 161.

4.1.2.4 CH01f07a

Este microsatélite fue inicialmente desarrollado para manzano por Liebhard et al. (2002). En este estudio sobre peral se identificaron 18 alelos, con un rango alélico de 173-219 pb, mientras que en trabajos previos de manzano Pierantoni et al. (2004) encontraron un rango comprendido entre 180 y 200 pb, Evans et al. (2009) entre 175-214, y Bassil et al. (2009) entre 180-214.

La frecuencia de los alelos fueron de forma decreciente: 182, 184, 190, 177, 188, 192, 209, 197, 199, 194, 173, 181, 205, 207, 213, 186, 201, y 219 (Figura 15).

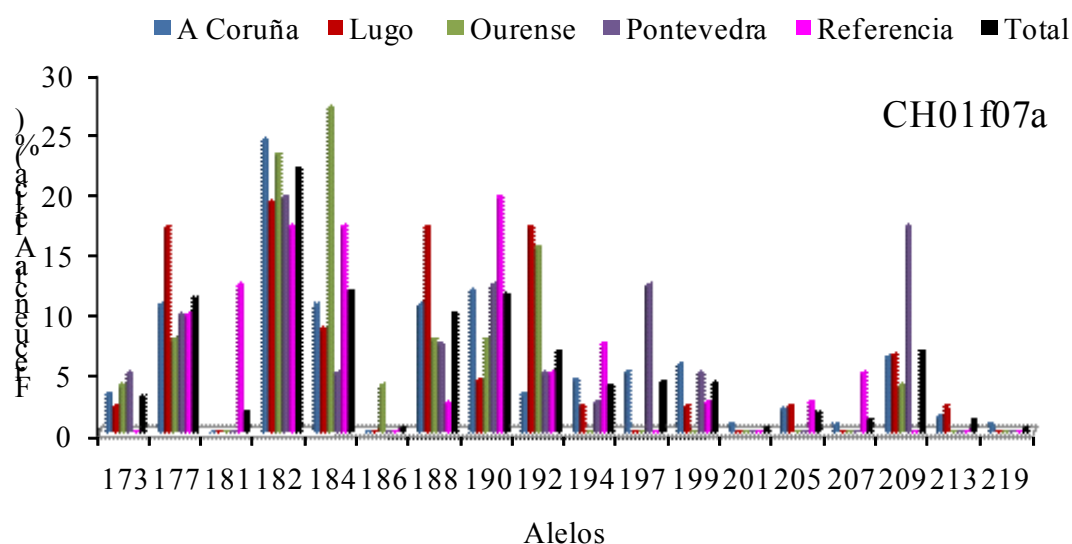


Figura 15. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH01f07a.

Se detectaron 13 alelos raros en el conjunto de genotipos: el alelo 188 en las variedades comerciales de referencia; los alelos 192, 201, 207 y 219 en A Coruña; el alelo 190 en Lugo; los alelos 186 y 209 en Ourense; el alelo 173 en A Coruña, Lugo y Ourense; el alelo 194 en A Coruña, Lugo y Pontevedra; el alelo 199 en Lugo y las comerciales de referencia; el alelo 205 en A Coruña, Lugo y las comerciales de referencia; el alelo 213 en A Coruña y Lugo (Figura 15).

El alelo 181 solo fue identificado en las variedades comerciales de referencia, el 186 en Ourense, y los alelos 201 y 219 en A Coruña. Además de estos alelos que se presentaron exclusivamente en una población, tampoco se presentaron los alelos 173 y 209 en las variedades comerciales de referencia; los alelos 194 y el 199 en Ourense; el alelo 197 en Lugo, Ourense y las comerciales de referencia; el alelo 205 en Ourense y Pontevedra; el alelo 207 en Lugo, Ourense y Pontevedra; y el alelo 213 en Ourense, Pontevedra y las comerciales de referencia (Figura 15).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en negrita los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (16): 173, 177, 182, 184, 188, 190, 192, 194, 197, 199, **201**, 205, 207, 209, 213, **219**.

Lugo (12): 173, 177, 182, 184, 188, 190, 192, 194, 199, 205, 209, 213.

Ourense (9): 173, 177, 182, 184, **186**, 188, 190, 192, 209.

Pontevedra (11): 173, 177, 182, 184, 188, 190, 192, 194, 197, 199, 209.

Variedades comerciales de referencia (11): 177, **181**, 182, 184, 188, 190, 192, 194, 199, 205, 207

4.1.2.5 CH02b10

Este SSR fue desarrollado primeramente para manzano por Gianfranceschi et al. (1998). En este estudio de peral detectamos 22 alelos, con un rango comprendido entre 112-161 pb. Trabajos previos en peral han descrito rangos alélicos entre 90 y 100 pb (Pierantoni et al., 2004), entre 124 y 140 pb (Bassil et al., 2009), y entre 112 y 161 pb (Evans et al., 2009).

De forma decreciente, los alelos más frecuentes fueron: 122, 130, 132, 120, 126, 128, 136, 118, 155, 149, 161, 124, 138, 143, 147, 151, 116, 134, 145, 112, 141, y 153 (Figura 16).

Se encontraron un total de alelos 15 alelos raros: los alelos 112, 128 y 147 en las variedades comerciales de referencia; los alelos 116, 153 y 161 en A Coruña; el alelo 136 en Lugo; el alelo 141 en Pontevedra; los alelos 118 y 155 en A Coruña, Lugo, y las comerciales de referencia; el alelo 134 en A Coruña y Pontevedra; el alelo 138 en A Coruña y las comerciales de referencia; el alelo 143 en A Coruña y Lugo; el alelo 149 en A Coruña y Ourense; el 151 en A Coruña, Ourense y Pontevedra (Figura 16).

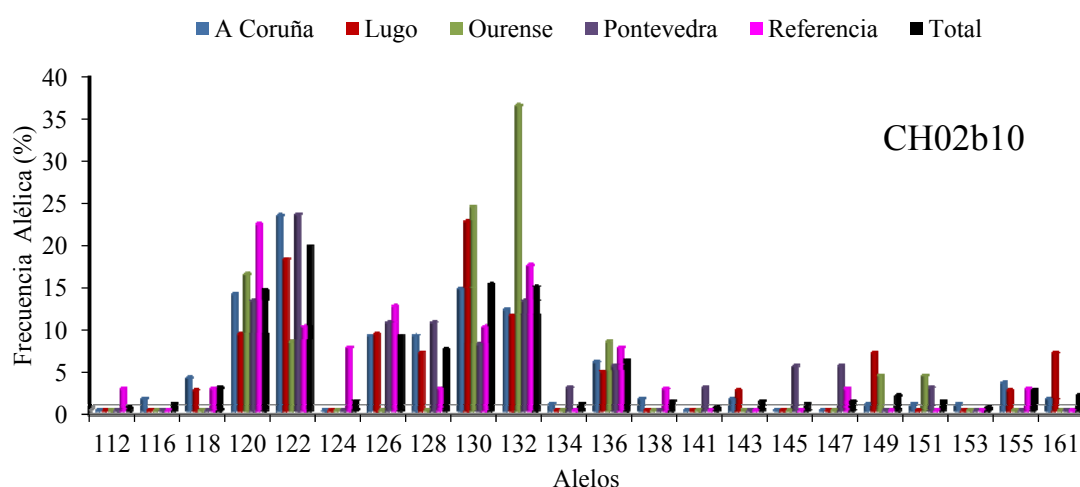


Figura 16. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH02b10.

Los alelos 112 y 124 se presentaron únicamente en las variedades comerciales de referencia; los alelos 116 y 153 en A Coruña; y los alelos 141 y 145 en Pontevedra. Además de estos alelos, exclusivos de cada grupo que no se presentaron en el resto de poblaciones, tampoco se encontraron los siguientes alelos: el 118 y el 155 en Ourense y Pontevedra; el 126 y el 128 en Ourense; el 134 en Lugo, Ourense y las comerciales de referencia; el 138 en Lugo, Ourense y Pontevedra; el 147 en A Coruña, Lugo y Ourense; el 149 en Pontevedra y las comerciales de referencia; el 151 en Lugo y las comerciales de referencia; y el 143 y el 161 en Ourense, Pontevedra y las comerciales de referencia (Figura 16).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en **negrita** los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (17): **116**, 118, 120, 122, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 143, 149, 151, **153**, 155, 161.

Lugo (12): 118, 120, 122, 126, 128, 130, 132, 136, 143, 149, 155, 161.

Ourense (7): 120, 122, 130, 132, 136, 149, 151.

Pontevedra (12): 120, 122, 126, 128, 130, 132, 134, 136, **141**, **145**, 147, 151.

Variedades comerciales de referencia (13): **112**, 118, 120, 122, **124**, 126, 128, 130, 132, 136, 138, 147, 155.

4.1.2.6 CH02c09

Este microsatélite inicialmente fue desarrollado para manzano por Liebhard et al. (2002). El rango encontrado en el presente trabajo fue de 229–283 pb con un total de 16 alelos. De forma decreciente, los alelos más frecuentes fueron: 245, 237, 239, 243, 241, 283, 249, 229, 247, 235, 251, 255, 231, 233, 253, y 267 (Figura 17).

Se encontraron un total de 11 alelos raros: el alelo 229 en A Coruña, Ourense, Pontevedra y las variedades comerciales de referencia; el alelo 231 en A Coruña; los alelos 233, 243 y 253 en las variedades comerciales de referencia; el alelo 267 en Ourense; el alelo 235 en A Coruña, Ourense y Pontevedra; el alelo 249 en A Coruña y Lugo; el alelo 251 en A Coruña, Pontevedra y las comerciales de referencia; el alelo 283 en Lugo y Pontevedra; el alelo 247 en todas las provincias gallegas y en las comerciales de referencia (Figura 17).

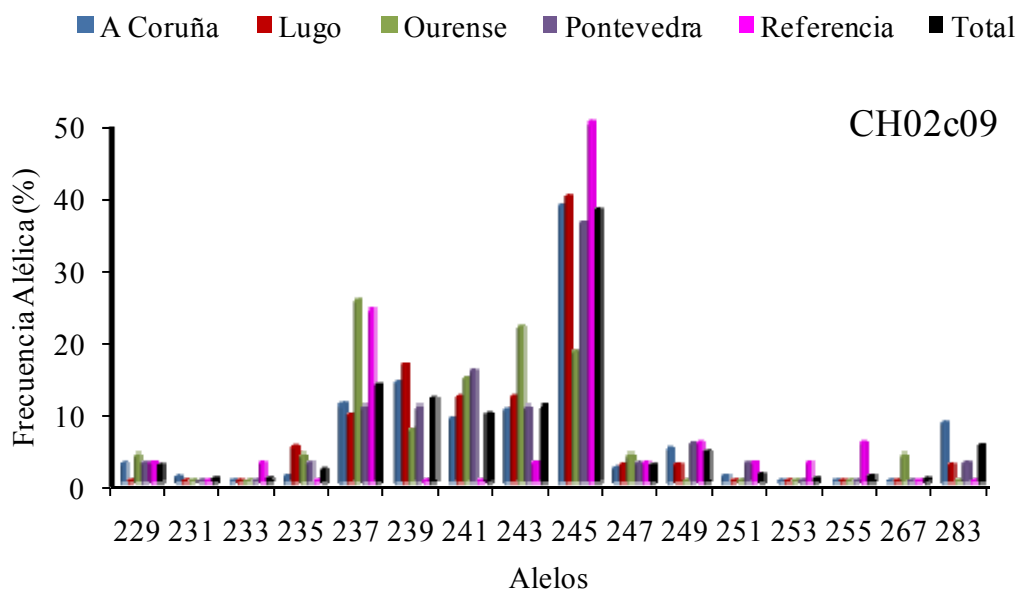


Figura 17. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH02c09.

El alelo 231 solo se presentó en A Coruña, el 267 en Ourense, y los alelos 233, 253 y 255 en las comerciales de referencia. Además de estos alelos exclusivos presentes en una única población, tampoco se encontraron los siguientes alelos: el alelo 229 en Lugo; el alelo 249 en Ourense; el alelo 251 en Lugo y Ourense; los alelos 235, 239 y 241 en las comerciales de referencia; y el alelo 283 en Ourense y las comerciales de referencia (Figura 17).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en negrita los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (12): 229, **231**, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 283.

Lugo (9): 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 283.

Ourense (9): 229, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, **267**.

Pontevedra (11): 229, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 283.

Variedades comerciales de referencia (10): 229, **233**, 237, 243, 245, 247, 249, 251, **253**, **255**.

4.1.2.7 CH02c11

Este microsatélite inicialmente fue desarrollado para manzano por Liebhard et al. (2002). El rango encontrado en el presente trabajo fue de 201-249 pb con un total de 21 alelos. De forma decreciente, los alelos más frecuentes fueron: 237, 215, 217, 239, 227, 207, 241, 219, 223, 247, 205, 225, 211, 235, 249, 221, 201, 229, 231, 233, y 245 (Figura 18).

En total se encontraron 15 alelos raros: los alelos 221, 223, 229 y 245 en A Coruña; los alelos 201 y 207 en Ourense; el alelo 205 en Pontevedra; el alelo 233 en Lugo; el alelo 231 en las variedades comerciales de referencia; el alelo 211 en A Coruña, Lugo y Ourense; el alelo 219 en las cuatro provincias gallegas; el alelo 225 en A Coruña y Ourense; el alelo 235 en A Coruña y Pontevedra; el alelo 247 en A Coruña y Lugo; el alelo 249 en A Coruña y Pontevedra (Figura 18).

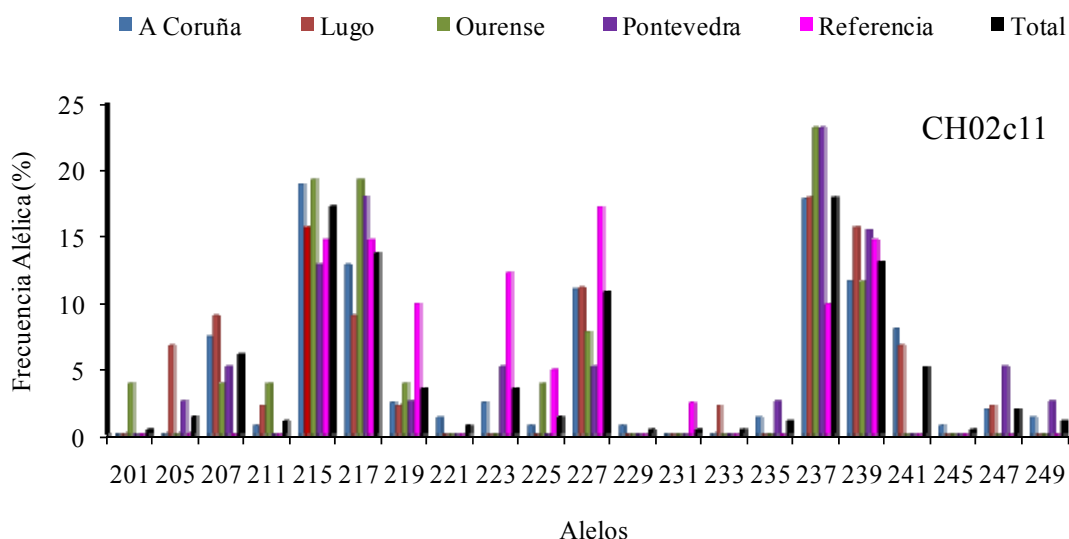


Figura 18. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH02c11.

Los alelos 221, 229 y 245 solo aparecieron en A Coruña; el 233 en Lugo; el 201 en Ourense; y el 231 en las variedades comerciales de referencia. Además de estos alelos exclusivos que solo se encontraron en una determinada zona y no en el resto, tampoco se encontraron los siguientes alelos: el alelo 205 en A Coruña, Ourense y las comerciales de referencia; el alelo 207 en los cultivares de referencia; el alelo 211 en Pontevedra y las comerciales de referencia; el alelo 223 en Lugo y Ourense; el alelo 225 en Lugo y Pontevedra; los alelos 235 y 249 en Lugo, Ourense y las comerciales; el alelo 241 en

Ourense, Pontevedra y las comerciales; y el alelo 247 en Ourense y las comerciales de referencia (Figura 18).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en negrita los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (17): 207, 211, 215, 217, 219, **221**, 223, 225, 227, **229**, 235, 237, 239, 241, **245**, 247, 249.

Lugo (12): 205, 207, 211, 215, 217, 219, 227, **233**, 237, 239, 241, 247.

Ourense (10): **201**, 207, 211, 215, 217, 219, 225, 227, 237, 239.

Pontevedra (12): 205, 207, 215, 217, 219, 223, 227, 235, 237, 239, 247, 249.

Variedades comerciales de referencia (9): 215, 217, 219, 223, 225, 227, **231**, 237, 239.

4.1.2.8 CH02d11

El rango encontrado fue de 95-129 pb con un total de 16 alelos. De forma decreciente, los alelos más frecuentes fueron: 111, 117, 121, 115, 105, 95, 127, 101, 119, 109, 113, 103, 123, 129, 99, y 107 (Figura 19).

Se identificaron un total de 11 alelos raros: los alelos 107 y 129 en A Coruña; el alelo 95 en A Coruña y Ourense; el alelo 99 en A Coruña y las variedades comerciales de referencia; el alelo 101 en A Coruña, Ourense y Pontevedra; el alelo 103 en las variedades comerciales de referencia; el alelo 105 en Ourense y las comerciales de referencia; el alelo 109 en A Coruña y Lugo; el alelo 113 en A Coruña, Lugo y Ourense; el alelo 115 en Ourense y Pontevedra; el alelo 119 en Lugo y Ourense (Figura 19).

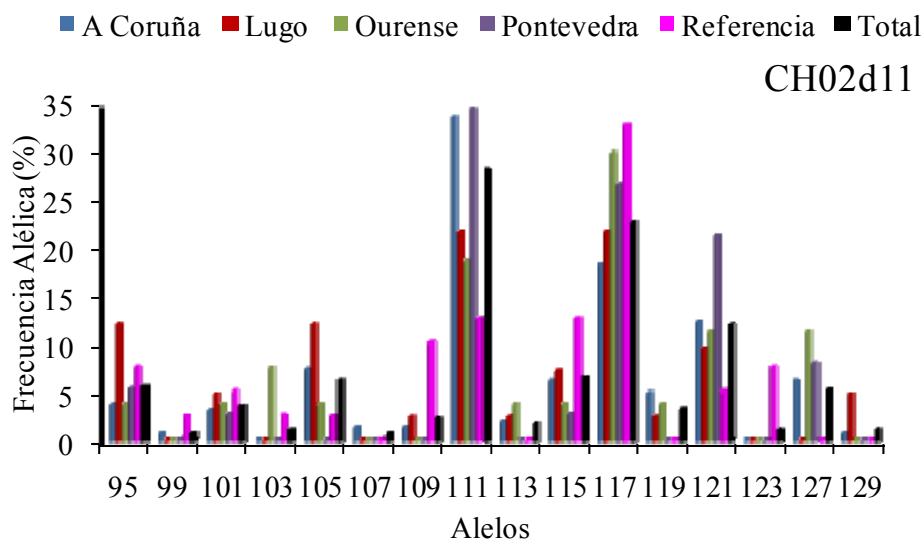


Figura 19. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH02d11.

El alelo 107 solo apareció en A Coruña y el 123 en las comerciales de referencia. Además de estos alelos exclusivos de una población, tampoco se localizaron los siguientes alelos: el alelo 99 no apareció en Lugo, Ourense y Pontevedra; el alelo 103 en A Coruña Lugo y Pontevedra; el alelo 105 en Pontevedra; el alelo 109 en Ourense y Pontevedra; los alelos 113 y 119 en Pontevedra y las comerciales de referencia; el alelo 127 en Lugo y las comerciales de referencia; y el alelo 129 no apareció en Ourense, Pontevedra ni las comerciales de referencia (Figura 19).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en **negrita** los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (14): 95, 99, 101, 105, **107**, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 127, 129.

Lugo (11): 95, 101, 105, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 129.

Ourense (11): 95, 101, 103, 105, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 127.

Pontevedra (7): 95, 101, 111, 115, 117, 121, 127.

Variedades comerciales de referencia (11): 95, 99, 101, 103, 105, 109, 111, 115, 117, 121, **123**.

4.1.2.9 CH03d12

Para este microsatélite fue posible identificar 21 alelos en un rango comprendido entre 91 y 159 pb. En trabajos previos, Pierantoni et al. (2004) encontraron un rango entre 110 y 140, y Evans et al. (2009) entre 84 y 162.

Los alelos más frecuentes, de manera decreciente, fueron: 125, 108, 112, 110, 106, 134, 114, 91, 97, 116, 132, 103, 120, 93, 95, 101, 118, 122, 142, 157, y 159 (Figura 20).

Se identificaron 19 alelos raros: los alelos 91 y 116 en A Coruña y Lugo; los alelos 93 y 95 en los cultivares comerciales de referencia; los alelos 97, 114, 118, 120, 142, 157 y 159 en A Coruña; los alelos 101, 122 y 134 en Lugo; los alelos 106, 108 y 132 en Pontevedra; el alelo 103 en A Coruña, Ourense y las comerciales de referencia; el alelo 110 en Ourense y las variedades comerciales de referencia (Figura 20).

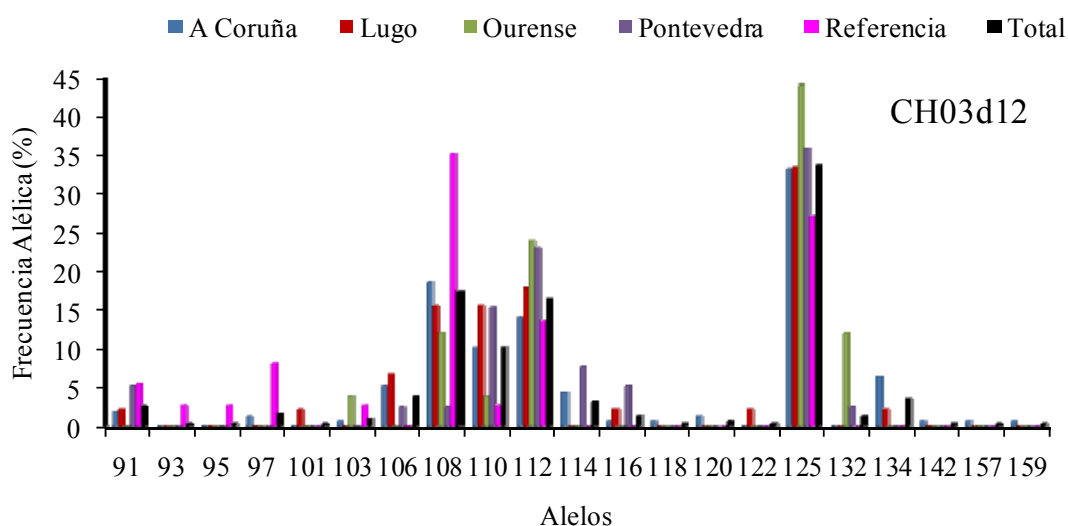


Figura 20. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH03d12.

Los alelos 93 y 95 solamente fueron detectados en las variedades comerciales de referencia; el 101 y el 122 en Lugo; y los alelos 118, 120, 142, 157 y 159 exclusivamente en A Coruña. Aparte de estos alelos que solo se presentaron en una zona concreta, tampoco se encontraron los siguientes alelos para las siguientes poblaciones: el alelo 91 en Ourense; el alelo 97 en Lugo, Ourense y Pontevedra; el alelo 103 en Lugo y Pontevedra; los alelos 106 y 116 en Ourense y las comerciales de referencia; el alelo 114 en Lugo,

Ourense y las comerciales; el alelo 132 en A Coruña, Lugo y las comerciales de referencia; y el alelo 134 en Ourense, Pontevedra y las comerciales de referencia (Figura 20).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en negrita los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (16): 91, 97, 103, 106, 108, 110, 112, 114, 116, **118, 120**, 125, 134, **142, 157, 159**.

Lugo (10): 91, **101**, 106, 108, 110, 112, 116, **122**, 125, 134.

Ourense (6): 103, 108, 110, 112, 125, 132.

Pontevedra (9): 91, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 125, 132.

Variedades comerciales de referencia (9): 91, **93, 95**, 97, 103, 108, 110, 112, 125.

4.1.2.10 CH03g07

Para este microsatélite, y en trabajos previos en peral, Pierantoni et al. (2004) identificaron un rango alélico entre 225 y 260 pb, Patocchi et al. (2009) entre 119 y 179 pb, para Bassil et al. (2009) el rango fue 232-262 pb, y Evans et al. (2009) encontraron un rango entre 198-264 pb. En este estudio el rango fue 204-268, presentándose un total de 23 alelos.

Los alelos más frecuentes fueron, de forma decreciente: 242, 256, 226, 232, 244, 228, 204, 266, 248, 246, 258, 268, 238, 245, 250, 215, 236, 252, 220, 211, 222, 234, y 264 (Figura 21).

Se encontraron 15 alelos raros: el alelo 211 en Ourense; los alelos 234, 236, 238, 246, 250, 252 y 264 en A Coruña; el alelo 244 en Lugo; el alelo 222 en las variedades comerciales de referencia; los alelos 220 y 248 en Pontevedra y las comerciales de referencia; los alelos 258 y 268 en A Coruña y Lugo; el alelo 245 en Lugo y las variedades comerciales de referencia (Figura 21).

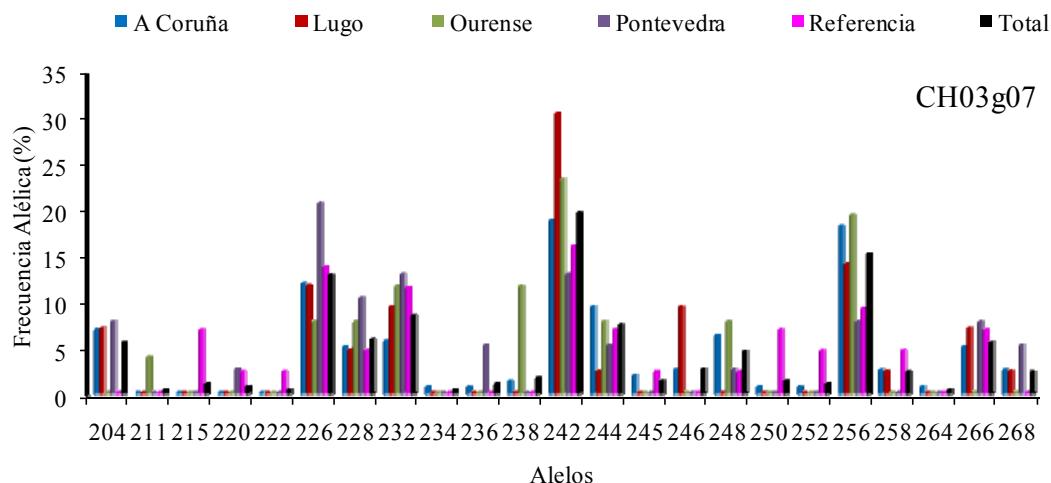


Figura 21. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH03g07.

El alelo 211 solo se presentó en Ourense, los alelos 215 y 222 en las variedades comerciales de referencia, y los alelos 234 y 264 solo aparecieron en A Coruña.

Además de estos alelos exclusivos de estas poblaciones, tampoco se presentaron los alelos 204 y 268 en Ourense y las comerciales de referencia; el alelo 220 en A Coruña, Lugo y Ourense; el alelo 236 en Lugo, Ourense y las comerciales; el alelo 238 en Lugo, Pontevedra y las comerciales; los alelos 245, 250 y 252 en Lugo, Ourense y Pontevedra; el alelo 246 en Ourense, Pontevedra y las comerciales; el alelo 248 en Lugo; el alelo 258 en Ourense y Pontevedra; y el alelo 266 en Ourense (Figura 21).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en **negrita** los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (19): 204, 226, 228, 232, **234**, 236, 238, 242, 244, 245, 246, 248, 250, 252, 256, 258, **264**, 266, 268.

Lugo (11): 204, 226, 228, 232, 242, 244, 246, 256, 258, 266, 268.

Ourense (9): **211**, 226, 228, 232, 238, 242, 244, 248, 256.

Pontevedra (11): 204, 226, 228, 232, 236, 242, 244, 248, 256, 266, 268.

Variedades comerciales de referencia (15): **215**, 220, **222**, 226, 228, 232, 242, 244, 245, 248, 250, 252, 256, 258, 266.

4.1.2.11 CH04c07

El rango de alelos encontrados en el presente trabajo para este locus fue 80-149 pb, identificándose un total de 19 alelos. En trabajos previos, los rangos descritos fueron de 120-150 pb (Pierantoni et al., 2004), 96-134 pb (Patocchi et al., 2009) y 79-151 pb (Evans et al., 2009).

Los alelos más frecuentes, en orden decreciente, fueron: 80, 124, 149, 112, 132, 122, 116, 104, 102, 100, 94, 120, 126, 134, 136, 110, 145, 114, y 130 (figura 22).

Se identificaron 15 alelos raros: los alelos 94, 102, 116 y 145 en A Coruña; los alelos 100 y 114 en Lugo; los alelos 126 y 130 en las variedades comerciales de referencia; el alelo 104 en A Coruña y Pontevedra; el alelo 112 en Lugo y Ourense; los alelos 120, 122 y 136 en A Coruña y Lugo; el alelo 132 en Ourense; el alelo 134 en A Coruña, Ourense y Pontevedra (Figura 22).

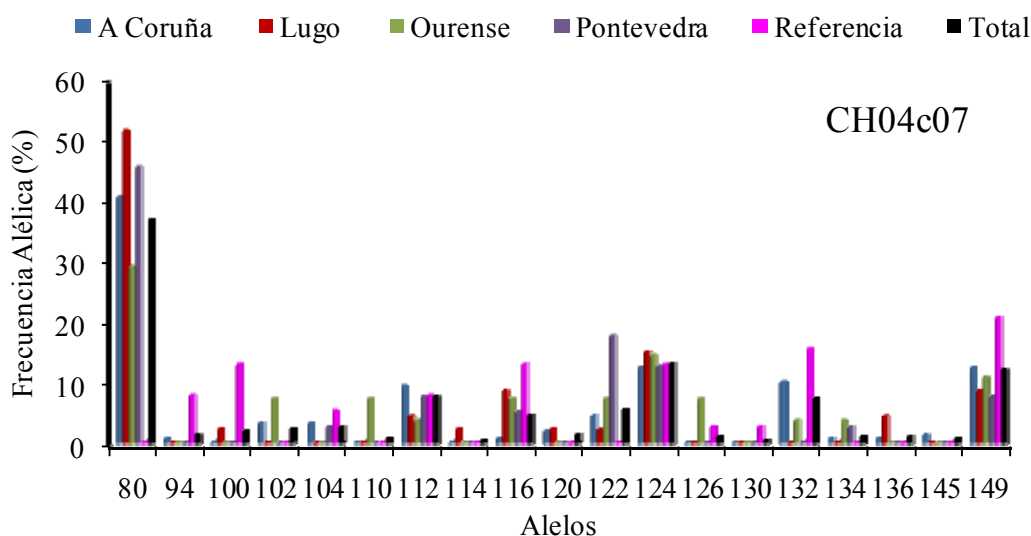


Figura 22. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH04c07.

El alelo 110 solo se presentó en Ourense, el 114 en Lugo, el 130 en las variedades comerciales de referencia, y el 145 en A Coruña. Además de estos alelos exclusivos para una única población, tampoco se presentaron los siguientes alelos para las siguientes poblaciones: los alelos 80 y 122 en las comerciales de referencia; el alelo 94 en Lugo, Ourense y Pontevedra; el alelo 100 en A Coruña, Ourense y Pontevedra; el alelo 102 en

Lugo, Pontevedra y comerciales de referencia; el alelo 104 en Lugo y Ourense; los alelos 120 y 136 en Ourense, Pontevedra, y comerciales de referencia; el alelo 126 en A Coruña, Lugo y Pontevedra; el alelo 132 en Lugo y Pontevedra; y el alelo 134 en Lugo y las comerciales de referencia (Figura 22).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en negrita los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (14): 80, 94, 102, 104, 112, 116, 120, 122, 124, 132, 134, 136, **145**, 149.

Lugo (10): 80, 100, 112, **114**, 116, 120, 122, 124, 136, 149.

Ourense (11): 80, 102, **110**, 112, 116, 122, 124, 126, 132, 134, 149.

Pontevedra (8): 80, 104, 112, 116, 122, 124, 134, 149.

Variedades comerciales de referencia (10): 94, 100, 104, 112, 116, 124, 126, **130**, 132, 149.

4.1.2.12 CH04e03

Para este locus el rango alélico encontrado fue de 177-205 pb. En trabajos previos de peral se identificaron los rangos 175-200 pb (Pierantoni et al., 2004), 182-236 pb (Patocchi et al., 2009) y 180-205 pb (Evans et al., 2009).

En este estudio se identificaron un total de 7 alelos, que fueron, en frecuencia decreciente: 180, 205, 188, 198, 196, 200, y 177 (Figura 23).

Se encontraron 5 alelos raros: el alelo 177 para las variedades comerciales de referencia; los alelos 188 y 196 en A Coruña; el alelo 198 en A Coruña, Lugo y Ourense; el alelo 200 en Lugo y Pontevedra (Figura 23).

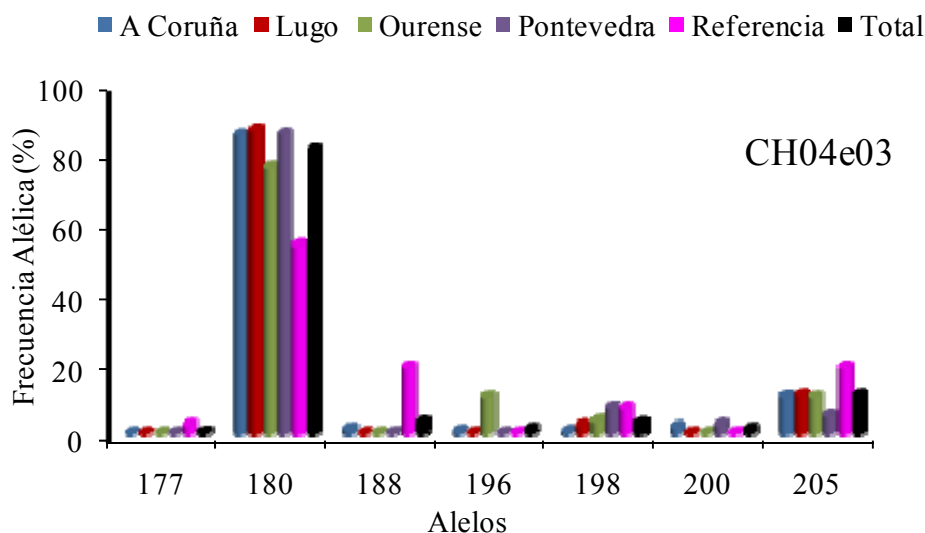


Figura 23. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH04e03.

El alelo 177 solo se presentó en las variedades comerciales de referencia. Además de este alelo presente en esta única población, tampoco se presentaron los siguientes alelos: el alelo 188 en Lugo, Ourense, y Pontevedra; el alelo 196 en Lugo, Pontevedra y comerciales de referencia; el alelo 198 en A Coruña; y el alelo 200 en Lugo, Ourense y las comerciales de referencia (Figura 23).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en **negrita** los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (5): 180, 188, 196, 200, 205.

Lugo (3): 180, 198, 205.

Ourense (4): 180, 196, 198, 205.

Pontevedra (4): 180, 198, 200, 205.

Variedades comerciales de referencia (5): **177**, 180, 188, 198, 205.

4.1.2.13 CH05a02

El rango encontrado en el estudio fue 103-109 pb para el locus CH05a02a y 111-131 pb para el locus CH05a02b. Los rangos definidos en trabajos previos fueron 114-120 pb (Pierantoni et al., 2004) y 103-125 pb (Evans et al., 2009).

De forma decreciente, los alelos más frecuentes fueron, para CH05a02a: 103, 107, 109, y 105; y para CH05a02b: 113, 115, 117, 111, 119, 121, 123, 125, 127, y 131 (Figura 24).

Se encontraron 7 alelos raros: los alelos 111 y 121 en Ourense; los alelos 119 y 127 en las variedades comerciales de referencia; el alelo 123 en las variedades comerciales de referencia, A Coruña y Pontevedra; el alelo 125 en A Coruña y las comerciales de referencia; y el alelo 131 en Pontevedra (Figura 24).

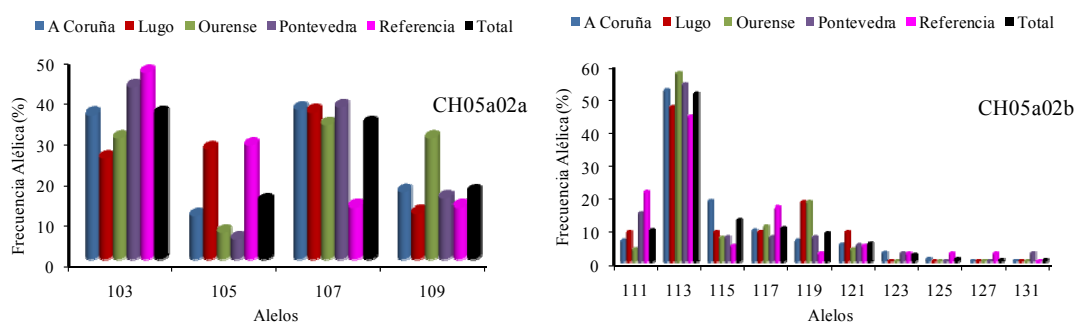


Figura 24. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH05a02.

En el locus CH05a02a se presentaron todos los alelos en todas las poblaciones. En el locus CH05a02b, el alelo 127 solo se presentó en las variedades comerciales de referencia, y el 131 en Pontevedra. Además de estos alelos exclusivos de una única población, tampoco se presentaron los siguientes alelos: alelo 123 en Lugo y Ourense; y alelo 125 en Lugo, Ourense y Pontevedra (Figura 24).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en **negrita** los alelos exclusivos para la población):

Locus CH05a02a

A Coruña (4): 103, 105, 107, 109.

Lugo (4): 103, 105, 107, 109.

Ourense (4): 103, 105, 107, 109.

Pontevedra (4): 103, 105, 107, 109.

Variedades comerciales de referencia (4): 103, 105, 107, 109.

Locus CH05a02b

A Coruña (8): 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125.

Lugo (6): 111, 113, 115, 117, 119, 121.

Ourense (6): 111, 113, 115, 117, 119, 121.

Pontevedra (8): 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, **131**.

Variedades comerciales de referencia (9): 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, **127**.

4.1.2.14 CH05c06

El rango alélico encontrado para este locus fue 83-117 pb. En trabajos previos sobre peral, Evans et al. (2009) definieron un rango entre 83-119 pb, Patocchi et al. (2009) entre 84-130 pb y Bassil et al. (2009) entre 92-98 pb.

Se identificaron un total de 14 alelos, que fueron, de forma decreciente: 87, 91, 111, 97, 93, 107, 95, 103, 83, 105, 89, 101, 114, y 117 (Figura 25).

Se encontraron 10 alelos raros: los alelos 89, 95 y 105 en A Coruña; los alelos 97 y 101 en Ourense; los alelos 114 y 117 en las variedades comerciales de referencia; el alelo 93 en A Coruña, Ourense y Pontevedra; el alelo 103 en A Coruña, Lugo y las variedades comerciales de referencia; el alelo 107 en A Coruña y Pontevedra (Figura 25).

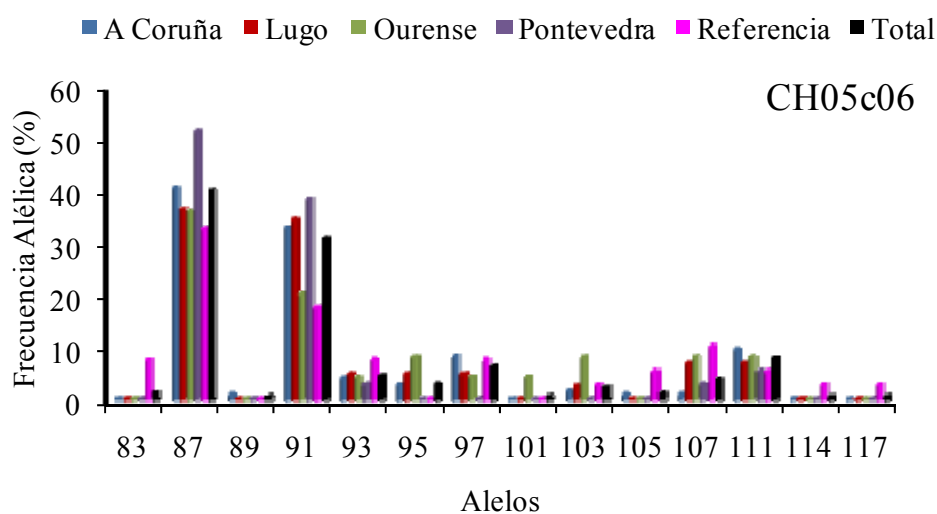


Figura 25. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus CH05c06.

Los alelos 83, 114 y 117 solo aparecieron en las variedades comerciales de referencia, el alelo 89 en A Coruña y el alelo 101 en Ourense. Aparte de estos alelos exclusivos de una única población, tampoco se presentaron los siguientes alelos: el alelo 95 en Pontevedra y las comerciales de referencia; los alelos 97 y 103 en Pontevedra; y el alelo 105 en Lugo, Ourense y Pontevedra (Figura 25).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en negrita los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (10): 87, **89**, 91, 93, 95, 97, 103, 105, 107, 111.

Lugo (8): 87, 91, 93, 95, 97, 103, 107, 111.

Ourense (9): 87, 91, 93, 95, 97, **101**, 103, 107, 111.

Pontevedra (5): 87, 91, 93, 107, 111.

Variedades comerciales de referencia (11): **83**, 87, 91, 93, 97, 103, 105, 107, 111, **114**, **117**.

4.1.2.15 CH-VfI

Para este locus Evans et al. (2009) encontraron un rango entre 130-164 pb, y Patocchi et al. (2009) identificaron un rango entre 128-188 pb. En el presente estudio se identificó un rango alélico entre 128-162 pb.

Se identificaron un total de 15 alelos. De forma decreciente, los alelos más frecuentes fueron: 150, 130, 132, 140, 128, 148, 138, 152, 134, 142, 146, 154, 156, 158, y 162 (Figura 26).

En este SSR se detectaron 10 alelos raros: los alelos 134, 154, 158 y 162 en las variedades comerciales de referencia; los alelos 142 y 156 en A Coruña; los alelos 138 y 146 en A Coruña y Pontevedra; el alelo 148 en Ourense y Pontevedra; el alelo 152 en A Coruña y Ourense (Figura 26).

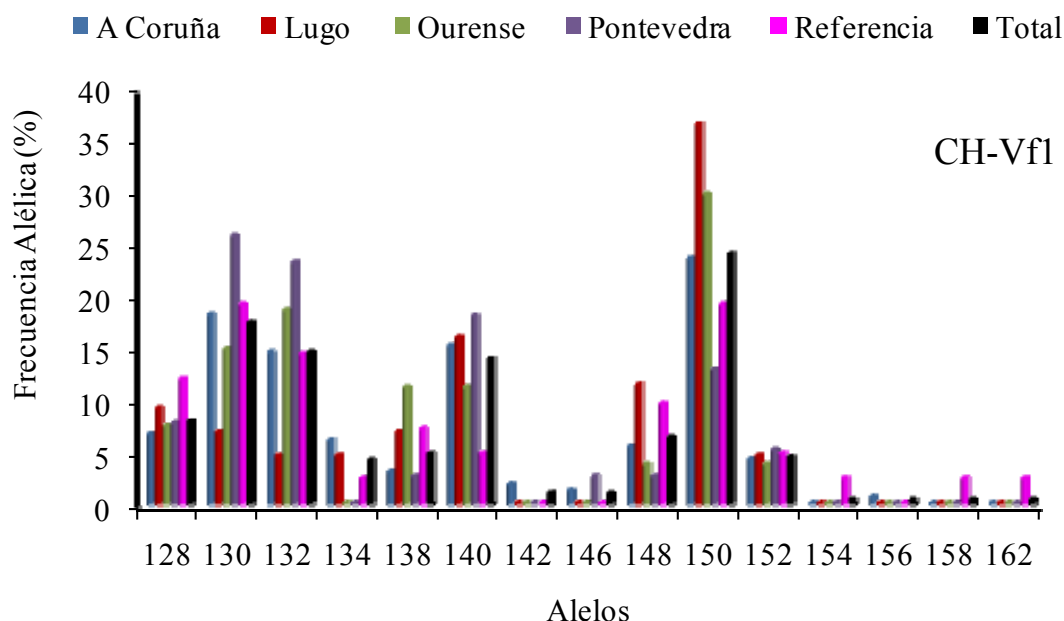


Figura 26. Frecuencias alélicas de genotipos de peral de Galicia y de variedades comerciales de referencia para el locusCH-Vf1.

Los alelos 142 y 156 fueron exclusivos de A Coruña; y los alelos 154, 158 y 162 fueron observados solamente en las variedades comerciales de referencia. Aparte de estos alelos exclusivos de una población, no se presentaron los siguientes alelos: alelo 134 en Ourense y Pontevedra; y alelo 146 en Lugo, Ourense y las comerciales de referencia (Figura 26).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en **negrita** los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (12): 128, 130, 132, 134, 138, 140, **142**, 146, 148, 150, 152, **156**.

Lugo (9): 128, 130, 132, 134, 138, 140, 148, 150, 152.

Ourense (8): 128, 130, 132, 138, 140, 148, 150, 152.

Pontevedra (9): 128, 130, 132, 138, 140, 146, 148, 150, 152.

Variedades comerciales de referencia (12): 128, 130, 132, 134, 138, 140, 148, 150, 152, **154**, **158**, **162**.

4.1.2.16 EMPc11

Para este locus se identificó un rango alélico entre 123-171 pb. En trabajos previos, Fernández-Fernández et al. (2006) identificaron un rango entre 121-161 pb, mientras que Evans et al. (2009) encontraron un rango entre 123-171 pb.

Se identificaron un total de 15 alelos. De forma decreciente, los alelos más frecuentes fueron: 149, 138, 142, 136, 155, 153, 144, 157, 134, 140, 123, 151, 146, 143, y 171 (Figura 27).

Se detectaron un total de 10 alelos raros: los alelos 134, 144 y 151 en A Coruña; los alelos 136, 143 y 171 en las variedades comerciales de referencia; el alelo 140 en A Coruña, Ourense, Pontevedra y las comerciales de referencia; el alelo 146 en A Coruña y Lugo; el alelo 155 en Pontevedra; el alelo 157 en A Coruña, Lugo y Pontevedra (Figura 27).

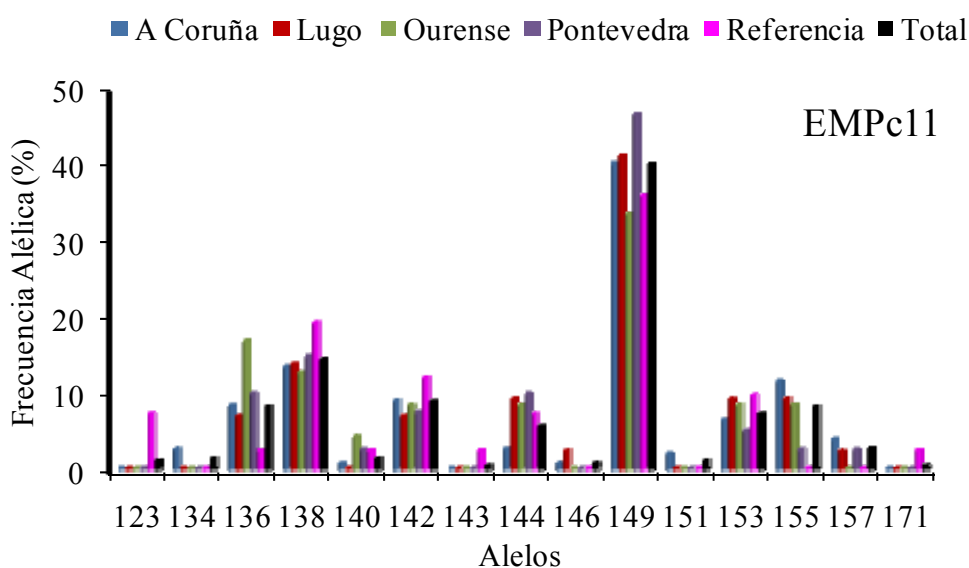


Figura 27. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus EMPc11.

Los alelos 123, 143 y 171 solo se presentaron en las variedades comerciales de referencia; y los alelos 134 y el 151 solamente en A Coruña. Además de estos alelos exclusivos de estas poblaciones, no se presentaron tampoco los siguientes alelos: el alelo 140 en Lugo; el alelo 146 en Ourense, Pontevedra y las comerciales de referencia; el alelo 155 en las comerciales de referencia; y el alelo 157 en Ourense y las variedades comerciales de referencia (Figura 27).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en negrita los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (12): **134**, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 149, **151**, 153, 155, 157.

Lugo (9): 136, 138, 142, 144, 146, 149, 153, 155, 157.

Ourense (8): 136, 138, 140, 142, 144, 149, 153, 155.

Pontevedra (9): 136, 138, 140, 142, 144, 149, 153, 155, 157.

Variedades comerciales de referencia (10): **123**, 136, 138, 140, 142, **143**, 144, 149, 153, **171**.

4.1.2.17 EMPc117

En trabajos previos, Fernández-Fernández et al. (2006) encontraron alelos dentro de un rango entre 76-119 pb, y Evans et al. (2009) encontraron un rango entre 82-142 pb. En este estudio se identificó un rango alélico entre 84-139 pb, con un total de 19 alelos.

De forma decreciente, los alelos más frecuentes fueron: 115, 119, 117, 113, 93, 88, 109, 105, 97, 99, 101, 91, 103, 111, 107, 123, 84, 121, y 139 (Figura 28).

Se identificaron un total de 13 alelos raros: los alelos 84, 99, 103, 105, 111, 121 y 139 en A Coruña; el alelo 91 en las variedades comerciales de referencia, Lugo, Ourense y Pontevedra; el alelo 97 en A Coruña y Pontevedra; los alelos 101 y 107 en las variedades comerciales de referencia y A Coruña; el alelo 109 en A Coruña y Ourense; el alelo 113 en las variedades comerciales de referencia; y el alelo 123 en A Coruña y Ourense (Figura 28).

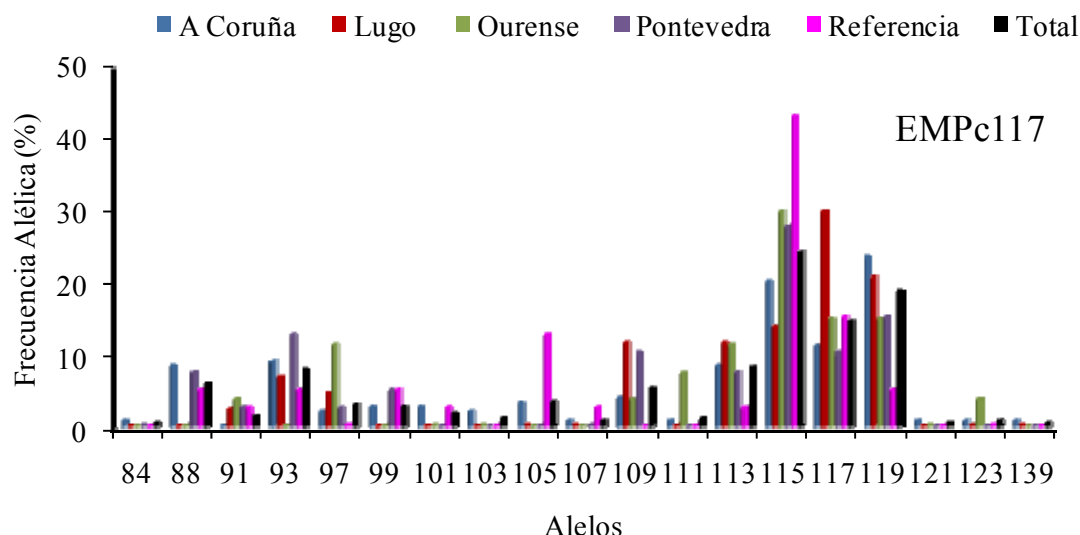


Figura 28. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus EMPc117.

Los alelos 84, 103, 121 y 139 solo se presentaron en A Coruña. Además de estos alelos exclusivos de esta población, tampoco se presentaron los siguientes alelos en las poblaciones referenciadas: el alelo 88 en Lugo y Ourense; el alelo 91 en A Coruña; el alelo 93 en Ourense; el alelo 99 en Lugo y Ourense; los alelos 101, 105 y 107 en Lugo, Ourense y Pontevedra; los alelos 97 y 109 en las comerciales de referencia; y los alelos 111 y 123 en Lugo, Pontevedra y las comerciales de referencia (Figura 28).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en **negrita** los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (19): **84**, 88, 91, 93, 97, 99, 101, **103**, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, **121**, 123, **139**.

Lugo (8): 91, 93, 97, 109, 113, 115, 117, 119.

Ourense (9): 91, 97, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 123.

Pontevedra (10): 88, 91, 93, 97, 99, 109, 113, 115, 117, 119.

Variedades comerciales de referencia (11): 88, 91, 93, 99, 101, 105, 107, 113, 115, 117, 119.

4.1.2.18 GD142

Los autores Evans et al. (2009) encontraron para este locus un rango alélico entre 141-186 pb. En el presente trabajo el rango fue entre 138-188 pb, con un total de 22 alelos. Los alelos más frecuentes en orden decreciente fueron: 176, 168, 162, 166, 154, 158, 184, 138, 150, 156, 147, 152, 140, 143, 160, 188, 178, 180, 164, 170, 172, y 174 (Figura 29).

Se detectaron un total de 16 alelos raros: los alelos 138 y 172 en Lugo; los alelos 140, 143, 150, 164, 170, 178 y 180 en A Coruña; el alelo 147 en A Coruña, Lugo, Ourense y las variedades comerciales de referencia; el alelo 152 en A Coruña, Lugo y Pontevedra; los alelos 154, 174 y 176 en las variedades comerciales de referencia; el alelo 160 en A Coruña y Ourense; el alelo 184 en Ourense y las variedades comerciales de referencia (Figura 29).

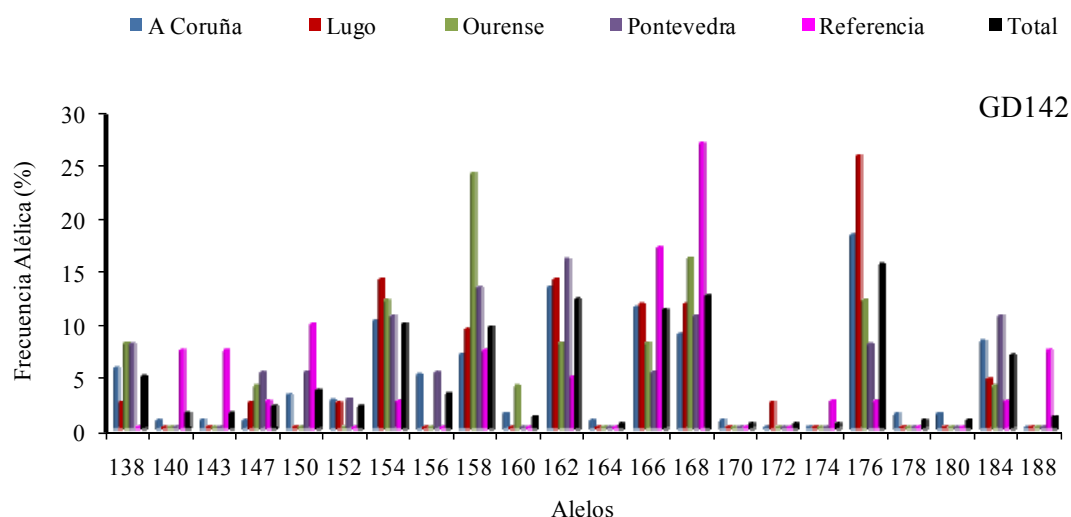


Figura 29. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus GD142.

Los alelos 164, 170, 178, y 180 solo se presentaron en A Coruña, el alelo 172 en Lugo, y los alelos 174 y 188 en las comerciales de referencia. Aparte de estos alelos exclusivos de cada población, no se presentaron los siguientes: el alelo 138 en las variedades comerciales de referencia; los alelos 140 y 143 en Lugo, Ourense y Pontevedra; el alelo 150 en Lugo y Ourense; el alelo 152 en Ourense y en las comerciales de referencia; el alelo 156 en Lugo, Ourense y las comerciales de referencia; y el alelo 160 en Lugo, Pontevedra y comerciales de referencia (Figura 29).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en negrita los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (19): 138, 140, 143, 147, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, **164**, 166, 168, **170**, 176, **178**, **180**, 184.

Lugo (11): 138, 147, 152, 154, 158, 162, 166, 168, **172**, 176, 184.

Ourense (10): 138, 147, 154, 158, 160, 162, 166, 168, 176, 184.

Pontevedra (12): 138, 147, 150, 152, 154, 156, 158, 162, 166, 168, 176, 184.

Variedades comerciales de referencia (13): 140, 143, 147, 150, 154, 158, 162, 166, 168, **174**, 176, 184, **188**.

4.1.2.19 GD147

Este locus ya fue previamente estudiado por Evans et al. (2009) y Patocchi et al. (2009), quienes definieron un rango alélico entre 112-164 pb y entre 123-172 pb, respectivamente. En este estudio se detectaron 12 alelos en un rango entre 117-162 pb.

Los alelos más frecuentes fueron, en orden decreciente: 125, 127, 133, 137, 135, 129, 131, 139, 154, 117, 143, y 162 (Figura 30).

Se encontraron un total de 10 alelos raros: los alelos 117, 135, 143 y 162 en A Coruña; el alelo 125 en Pontevedra y las variedades comerciales de referencia; el alelo 127 en las comerciales de referencia; el alelo 129 en A Coruña, Lugo, Ourense y las variedades comerciales de referencia; el alelo 131 en A Coruña, Lugo y Ourense; el alelo 139 en A Coruña y Lugo; el alelo 154 en A Coruña y las comerciales de referencia (Figura 30).

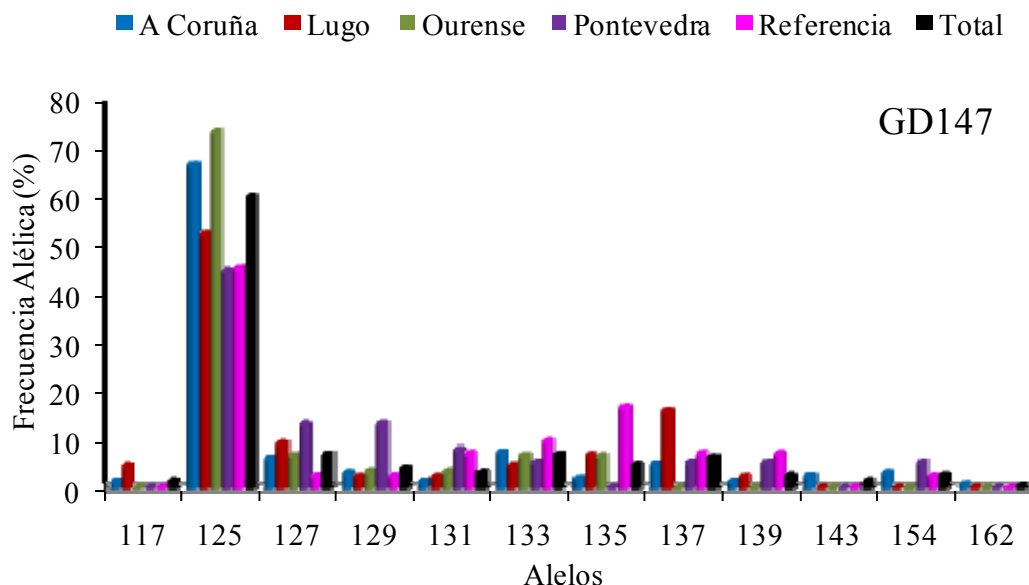


Figura 30. Frecuencias alélicas en genotipos de peral de Galicia y en variedades comerciales de referencia para el locus GD147.

Los alelos 143 y 162 solo se observaron en A Coruña. Aparte de estos dos alelos presentes en esta única población, tampoco se presentaron los siguientes alelos: el alelo 117 en Ourense, Pontevedra y las variedades comerciales de referencia; el alelo 135 en Pontevedra; los alelos 137 y 139 en Ourense; y el alelo 154 en Lugo y Ourense (Figura 30).

Resumiendo, para cada una de las poblaciones se presentaron los siguientes alelos (en **negrita** los alelos exclusivos para la población):

A Coruña (12): 117, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, **143**, 154, **162**.

Lugo (9): 117, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139.

Ourense (6): 125, 127, 129, 131, 133, 135.

Pontevedra (8): 125, 127, 129, 131, 133, 137, 139, 154.

Variedades comerciales de referencia (9): 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 154.

4.1.3 *Heterocigosidad y estadísticos F*

Los valores medios de la heterocigosidad, tanto observada como esperada, fueron similares en las cuatro provincias de Galicia (Tabla 23). La heterocigosidad esperada (H_e) más baja fue para el loci CH04e03 en los genotipos gallegos (0,29), los cultivares de referencia (0,66), y los 147 genotipos (0,36). El valor máximo fue 0,92 (CH01d09) para todas las muestras evaluadas, 0,91 (CH01d09) para cultivares de Galicia y 0,92 (CH03g07) para variedades comerciales de referencia. El rango total fue de 0,36-0,92, con un valor promedio de 0,80. Para las variedades comerciales de referencia el valor varió entre 0,66 y 0,92 (promedio 0,82), y para Galicia entre 0,29 y 0,91 (promedio 0,79).

Tabla 23. Heterocigosidad para 127 genotipos de peral de Galicia y 20 variedades comerciales de referencia con 19 SSRs.

Locus	Total (N ³ =147)		Cultivares de referencia (N= 20)		A Coruña (N=75)		Lugo (N=21)		Ourense (N=12)		Pontevedra (N=19)		Galicia (N=127)	
	He ⁴	Ho ⁵	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho	He	Ho
CH01d03	0,87	0,86	0,87	0,80	0,86	0,83	0,86	0,95	0,89	0,92	0,91	0,95	0,87	0,87
CH01d08 ¹	0,80	0,73	0,86	0,80	0,77	0,68	0,82	0,90	0,81	0,75	0,77	0,63	0,79	0,72
CH01d09	0,92	0,90	0,90	0,80	0,91	0,93	0,91	0,90	0,93	1,00	0,91	0,84	0,91	0,92
CH01f07a	0,89	0,86	0,89	0,80	0,89	0,89	0,89	0,81	0,87	0,92	0,9	0,79	0,89	0,87
CH02b10 ²	0,88	0,75	0,90	0,80	0,88	0,75	0,90	0,76	0,80	0,67	0,9	0,74	0,88	0,74
CH02c09	0,80	0,76	0,70	0,68	0,80	0,71	0,80	0,86	0,87	0,83	0,83	0,89	0,81	0,77
CH02c11	0,88	0,93	0,89	0,90	0,88	0,91	0,90	0,95	0,87	1,00	0,89	1,00	0,88	0,94
CH02d11 ¹	0,84	0,78	0,85	0,74	0,83	0,75	0,88	0,86	0,85	0,92	0,78	0,79	0,83	0,79
CH03d12	0,81	0,69	0,79	0,83	0,82	0,65	0,82	0,81	0,73	0,75	0,80	0,63	0,81	0,68
CH03g07 ²	0,90	0,88	0,92	0,85	0,90	0,88	0,87	0,95	0,89	1,00	0,91	0,74	0,89	0,88
CH04c07 ²	0,82	0,52	0,89	0,50	0,80	0,48	0,71	0,76	0,87	0,5	0,75	0,53	0,79	0,53
CH04e03	0,36	0,31	0,66	0,55	0,29	0,27	0,26	0,29	0,43	0,33	0,29	0,21	0,29	0,27
CH05a02a	0,71	0,69	0,69	0,42	0,70	0,74	0,73	0,86	0,73	0,58	0,67	0,68	0,70	0,73
CH05a02b	0,70	0,63	0,73	0,75	0,68	0,67	0,74	0,62	0,63	0,50	0,70	0,53	0,69	0,61
CH05c06	0,74	0,83	0,85	0,90	0,72	0,84	0,76	0,76	0,83	1,00	0,61	0,68	0,72	0,82
CH-Vf1 ²	0,86	0,73	0,89	0,60	0,86	0,76	0,83	0,81	0,86	0,75	0,84	0,68	0,86	0,76
EMPc11	0,80	0,84	0,81	0,8	0,79	0,85	0,80	0,86	0,85	1,00	0,78	0,74	0,79	0,85
EMPc117	0,87	0,67	0,79	0,5	0,88	0,72	0,84	0,71	0,86	0,75	0,87	0,53	0,87	0,69
GD142	0,91	0,90	0,88	0,80	0,90	0,92	0,88	0,90	0,90	1,00	0,92	0,89	0,90	0,92
GD147	0,63	0,60	0,74	0,45	0,56	0,57	0,72	0,67	0,46	0,42	0,77	0,89	0,61	0,62
Promedio	0,80	0,74	0,82	0,71	0,79	0,74	0,80	0,80	0,80	0,78	0,79	0,72	0,79	0,75

¹Locus ligados, ²locus con alelos nulos detectados con Micro-Checker (Van Oosterhout et al., 2004), ³número de genotipos, ⁴heterocigosidad esperada, ⁵heterocigosidad observada.

La heterocigosidad esperada (H_e) en Galicia (0,79) fue similar a la obtenida en estudios previos en *Pyrus* spp. (Bao et al., 2007; Bassil y Postman, 2010) y es comparable con los valores encontrados en 21 cultivares de peral europeo, en los que varió entre 0,30 y 0,95 (Fernández-Fernández et al., 2006). Los cultivares de peral gallegos presentaron una H_e ligeramente mayor que el valor medio obtenido en las variedades de manzana española (0,73) (Pereira-Lorenzo et al., 2008), y similar al valor de las variedades locales de manzana en Galicia (0,8), recogidos en el mismo Banco de Germoplasma (Pereira-Lorenzo et al., 2007), lo que se relaciona con el sistema de incompatibilidad común que promueve la polinización cruzada.

La heterocigosidad observada (H_o) media fue inferior a la esperada (H_e) en todos los loci menos en CH02c11, CH05c06 y EMPc11 (Tabla 23). Los valores de H_o variaron entre 0,31 y 0,93, con un promedio de 0,74. El valor máximo de H_o entre las provincias gallegas (1,00) se observó para los cultivares de Ourense en seis loci (CH01d09, CH02c11, CH03g07, CH05c06, EMPc11 y GD142), y en un locus para los cultivares de Pontevedra (CH02c11).

El valor medio de F_{IS} para los genotipos gallegos fue 0,091 ($P < 0,001$), con un valor máximo para CH04c07 en muestras de A Coruña (0,490, $P < 0,001$), y un valor mínimo para CH05c06 en muestras de Ourense (-0,212, $P < 0,05$) (Tabla 24). Los cultivares de referencia presentaron el valor máximo para CH04c07 (0,528, $P < 0,001$). El valor medio de F_{IT} para los cultivares del CIAM fue similar al valor de F_{IS} (0,098; $P < 0,001$), con un valor máximo para el locus CH04c07 (0,490; $P < 0,001$), y un valor mínimo para el locus CH05c06 (-0,129; $P < 0,05$) (Tabla 24). El valor de F_{IS} en los cultivares comerciales fue superior (0,176; $P < 0,001$).

Los valores de F_{IS} y F_{IT} fueron significativamente positivos para la mayoría de los loci y con valores similares a los de variedades de manzana española (Pereira-Lorenzo et al., 2008), lo que podría estar relacionado con la presencia de alelos nulos, ya que se determinó para algunos loci. También fueron observados valores no significativos y negativos para F_{IS} y F_{IT} , lo que indica que la mutación y migración pudieron haber contribuido de manera similar a la variación genética de las poblaciones (Hebel et al., 2006).

Tabla 24. Valores de F_{IS} y F_{IT} para 127 genotipos de peral pertenecientes a la colección del CIAM (Xunta de Galicia) y 20 cultivares comerciales de referencia con 19 SSRs.

Locus	F_{IS}							F_{IT}
	Comerciales de Referencia	A Coruña	Lugo	Ourense	Pontevedra	Galicia	Total	
CH01d03	0,158*	0,071*	-0,111 ^{ns}	-0,045 ^{ns}	-0,003 ^{ns}	0,022 ^{ns}	0,040 ^{ns}	0,071 ^{ns}
CH01d08 [‡]	0,098 ^{ns}	0,208***	-0,105 ^{ns}	0,119 ^{ns}	0,220*	0,162***	0,145***	0,208***
CH01d09	0,155*	-0,034 ^{ns}	0,041 ^{ns}	-0,074 ^{ns}	0,070 ^{ns}	-0,011 ^{ns}	0,008 ^{ns}	-0,034 ^{ns}
CH01f07a	0,092 ^{ns}	0,002 ^{ns}	0,084 ^{ns}	0,005 ^{ns}	0,145*	0,042 ^{ns}	0,045*	0,002*
CH02b10 [†]	0,099 ^{ns}	0,194***	0,212**	0,144 ^{ns}	0,171*	0,191***	0,178***	0,194***
CH02c09	0,027 ^{ns}	0,165***	-0,028 ^{ns}	0,134 ^{ns}	-0,085 ^{ns}	0,097**	0,083**	0,165**
CH02c11	0,040 ^{ns}	-0,031 ^{ns}	-0,066 ^{ns}	-0,144 ^{ns}	-0,136 ^{ns}	-0,065**	-0,049*	-0,031*
CH02d11 [‡]	0,170*	0,156***	0,027 ^{ns}	-0,075 ^{ns}	-0,013 ^{ns}	0,092**	0,096**	0,156***
CH03d12	0,006 ^{ns}	0,268***	0,036 ^{ns}	0,076 ^{ns}	0,257*	0,210***	0,171***	0,268***
CH03g07 [†]	0,198***	0,067*	-0,053 ^{ns}	-0,128 ^{ns}	0,181**	0,048*	0,069**	0,067**
CH04c07 [†]	0,528***	0,490***	0,029 ^{ns}	0,380***	0,313**	0,382***	0,388***	0,490***
CH04e03	0,275*	0,167*	-0,014 ^{ns}	0,448**	0,348*	0,207**	0,229***	0,167***
CH05a02a	0,429**	-0,031 ^{ns}	-0,067 ^{ns}	0,326*	0,006 ^{ns}	0,016 ^{ns}	0,051 ^{ns}	-0,031 ^{ns}
CH05a02b	0,009 ^{ns}	0,074 ^{ns}	0,269**	0,334*	0,279**	0,162**	0,132***	0,074***
CH05c06	-0,059 ^{ns}	-0,129*	0,078 ^{ns}	-0,212*	-0,085 ^{ns}	-0,098*	-0,091*	-0,129*
CH-Vf1 [†]	0,293**	0,144***	0,106 ^{ns}	0,229*	0,234*	0,160***	0,177***	0,144***
EMPC11	0,059 ^{ns}	-0,063 ^{ns}	0,019 ^{ns}	-0,184 ^{ns}	0,160*	-0,032 ^{ns}	-0,015 ^{ns}	-0,063 ^{ns}
EMPC117	0,372**	0,228***	0,227*	0,240*	0,462***	0,266***	0,277***	0,228***
GD142	0,142*	0,000 ^{ns}	0,014 ^{ns}	-0,117 ^{ns}	0,033 ^{ns}	-0,005 ^{ns}	0,015 ^{ns}	0,000 ^{ns}
GD147	0,468***	0,028 ^{ns}	0,132 ^{ns}	0,166 ^{ns}	-0,170 ^{ns}	0,045 ^{ns}	0,104**	0,028***
Total	0,176***	0,098***	0,042*	0,064**	0,114***	0,091***	0,098***	0,098***

*** P<0,001, ** P<0,01, * P<0,05, ^{ns} no significativo, [‡] locus ligados, [†] locus con alelos nulos detectados con Micro-Checker (Van Oosterhout et al., 2004).

Los valores más altos de F_{ST} se encontraron entre los cultivares de referencia y los de A Coruña (0,015, P<0,001), Lugo (0,014, P<0,001) y Pontevedra (0,013, P<0,001) (Tabla 25). El F_{ST} entre Galicia y los cultivares de referencia fue de 0,014 (P<0,001), indicando una diferenciación genética baja según Wright (1978), y muy pequeña según Weir y Cockerham (1984).

Tabla 25. Valores de F_{ST} para 127 genotipos de peral perteneciente al CIAM (Xunta de Galicia) y 20 variedades comerciales de referencia utilizando 19 SSRs.

	Referencias	A Coruña	Lugo	Ourense	Pontevedra	Galicia
Referencias	--					0,014***
A Coruña	0,015***	--				-
Lugo	0,014***	0,002 ^{ns}	--			-
Ourense	0,008 ^{ns}	0,002 ^{ns}	0,002 ^{ns}	--		-
Pontevedra	0,013***	0,000 ^{ns}	0,002 ^{ns}	0,001 ^{ns}	--	-

***P<0,001, ^{ns}no significativo.

4.1.4 Similaridad genética considerando las zonas de recolección de los genotipos

En un primer análisis considerando la provincia de origen de los 127 genotipos gallegos y los 20 cultivares de referencia, se estimó la distancia genética de Nei (1978) incluyendo las muestras de referencia como una agrupación geográfica distinta (Figura 31). Las variedades comerciales se diferenciaron por encima de 0,12 respecto a las variedades locales.

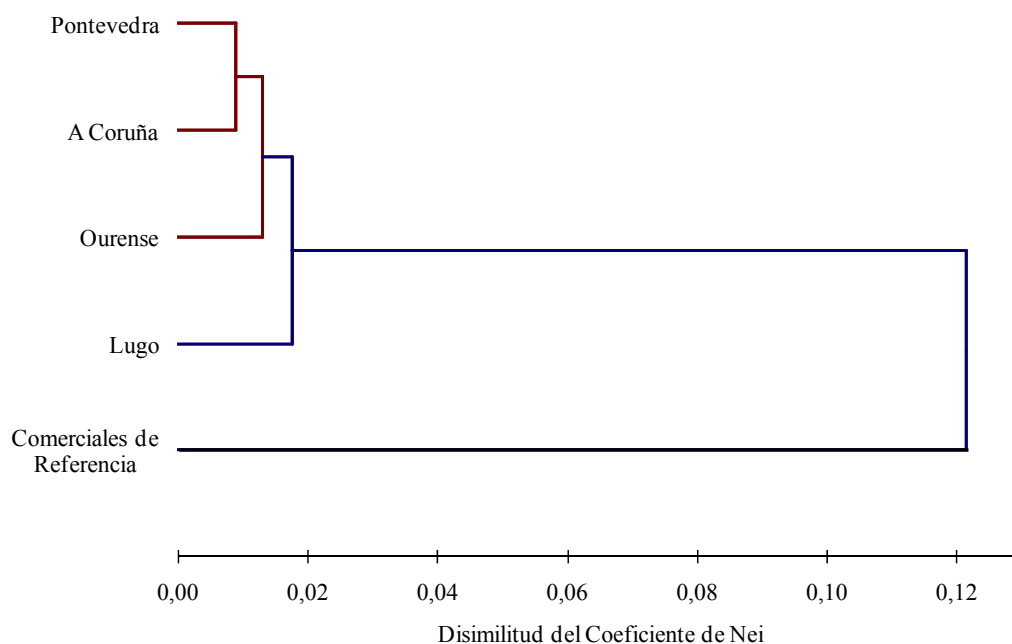


Figura 31. Dendrograma construido con la distancia genética Nei (1978) según la provincia de origen de los cultivares de peral pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia) y variedades comerciales de referencia mediante 19 SSRs.

En un análisis factorial de correspondencia (AFC) utilizando 13 y 19 SSRs, y teniendo en cuenta la provincia de origen de las muestras, se observó que los cultivares no se agruparon atendiendo a su origen, sino que se mezclaron (Figura 32). Los cultivares asiáticos ('Nijisseiki' y 'Shinseiki') fueron los únicos que quedaron apartados de los otros cultivares debido a que se trata de la especie *P. pyrifolia* (peral asiático), la que ha mostrado una mayor diferenciación genética respecto a *P. communis* (peral europeo).

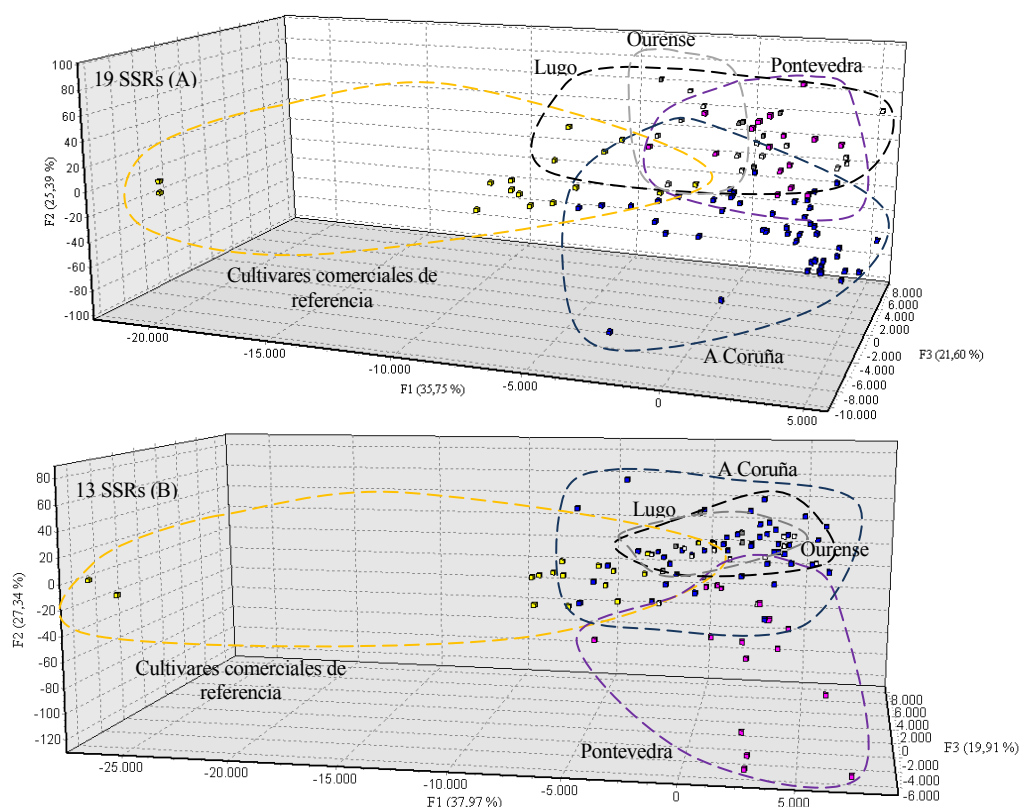


Figura 32. Análisis factorial de correspondencias de los cultivares de peral del CIAM (Xunta de Galicia), según sus provincias de origen, y cultivares de referencia analizados con 19 (A) y 13 SSRs (B).

4.1.5 Similitud genética entre genotipos

Para el análisis de la similitud genética entre individuos, se generó una base binaria. Para cada muestra se ha codificado la presencia (1) o la ausencia (0) de cada alelo en cada locus. A partir de esta matriz se ha calculado el Coeficiente de Jaccard (1908) y se ha construido un dendrograma mediante el método UPGMA con los programas XLSTAT y Free Tree utilizando todos los genotipos únicos de peral (*Pyrus* spp.) pertenecientes a Galicia y los cultivares comerciales de referencia (Figura 33).

El coeficiente de Jaccard también se ha utilizado en estudios de la familia Rosaceae (Decroocq et al, 2004; Hadonou et al, 2004; Lo et al., 2009; Hokanson et al., 2006; Rohrer et al., 2004; Dos Santos et al., 2011). Diversos autores consideran que el coeficiente de Jaccard (Jaccard, 1908) supone una buena estima de la similitud genética con marcadores tipo SSRs en comparación con técnicas convencionales de estimación (Zhang et al., 2006; Freitas et al., 2007; Mohammadi et al., 2008; Zhuang et al., 2003; Lo et al., 2009) debido a

que no considera la ausencia de un alelo como medida de similitud y permite el análisis conjunto de individuos con diferente nivel de ploidía (Lo et al., 2009).

Los 147 genotipos se agruparon mediante método UPGMA y el coeficiente de Jaccard, lo cual ha generado un dendrograma de similitud (Figura 33). Las especies *P. pyrifolia* ('Hosui', 'Nijisseiki' y 'Shinseiki'), *P. calleryana* ('Chanticleer') y *P. salicifolia* ('Péndula') fueron las que más se diferenciaron (SJ; 0,06). Las especies *P. pyrifolia* ('Hosui', 'Nijisseiki' y 'Shinseiki') y *P. calleryana* ('Chanticleer') proceden del Este Asiático (Bell et al., 1996), mientras que *P. salicifolia* ('Péndula') tiene su origen en Asia Central, esta última en una posición intermedia entre el peral europeo (*P. communis*) y *P. pyrifolia*. Los genotipos de *P. communis* se encontraron a partir de una SJ de 0,09. Entre 0,09 y 0,16 se diferenció el cultivar comercial 'Castell' junto a otros 26 genotipos del CIAM (Figura 33).

Una accesión del CIAM, 'Portuguesa', se ha agrupado con los cultivares asiáticos (aunque con un nivel de similaridad bajo), indicando que se trata de una introgresión asiática. Estas asociaciones presentaron bootstraps muy elevados (99%; Figura 33). Estudios previos ya observaron una separación clara entre perales europeos y asiáticos con SSRs (Kimura et al., 2002; Bassil y Postman, 2010), RAPD (Monte-Corvo et al., 2000; Teng et al., 2002), y AFLP (Monte-Corvo et al., 2000).

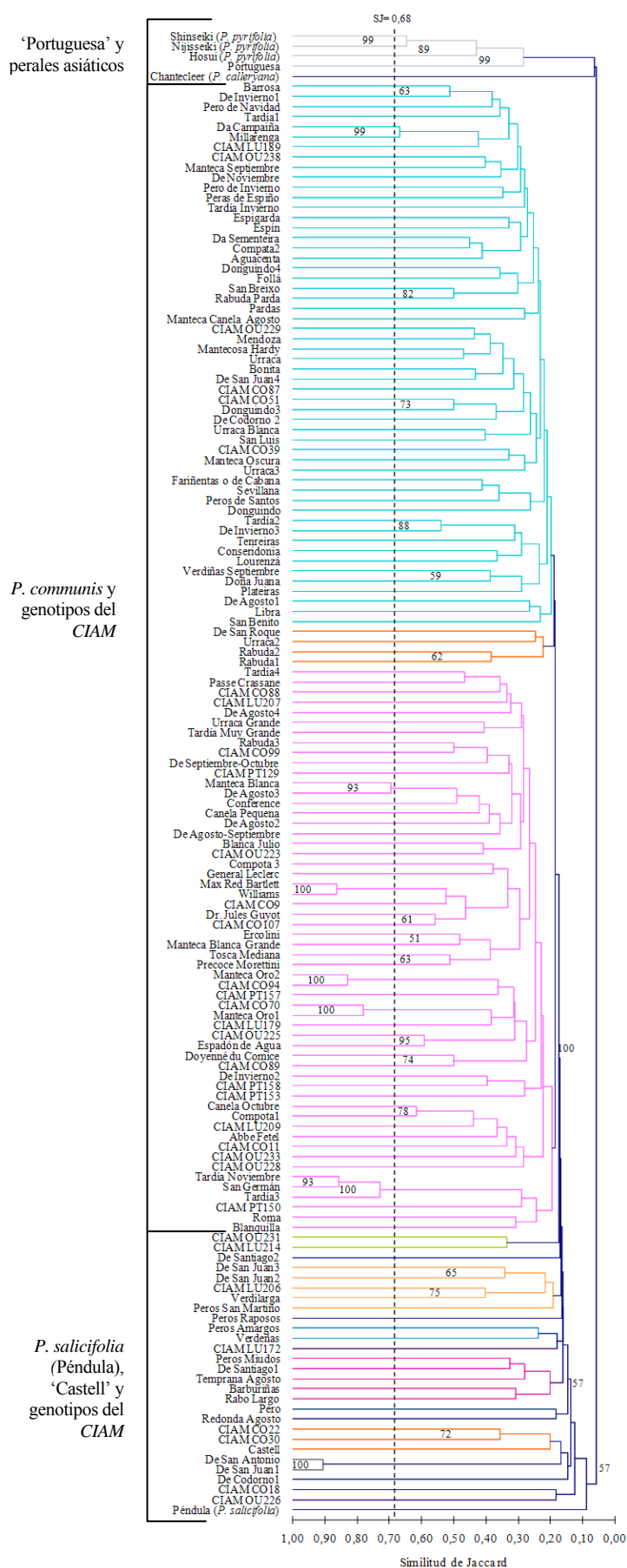


Figura 33. Dendrograma de similitud genética generado por el coeficiente de Jaccard y el método UPGMA para los 147 genotipos diferenciados de peral.

‘Nijisseiki’ y ‘Shinseiki’ presentan una alta similitud (0,64) entre los cultivares asiáticos. Sawazaki et al. (2002), utilizando marcadores tipo RAPD, también verificaron con anterioridad la similitud genética cercana entre ambas. ‘Nijisseiki’ fue cultivada en China en el siglo XX y ‘Shinseiki’ en Japón. ‘Shinseiki’ fue obtenida a partir del cruzamiento de los cultivares ‘Nijisseiki’ y ‘Chojuro’ (Kajiura y Sato, 1990). En nuestro estudio, ‘Nijisseiki’ y ‘Shinseiki’ compartieron al menos un alelo en 18 de los 20 loci evaluados (grupo 11, Tabla 26), indicando que las relaciones de parentesco pueden no ser tan directas como se han referenciado.

En total se identificaron 10 grupos con 23 genotipos (16%) que compartían al menos un alelo en cada locus, indicando que estos individuos están relacionados por hibridación (Tabla 26): 1) ‘Manteca Oro1’ y ‘CIAM CO70’ (SJ = 0,78); 2) ‘Williams’, ‘Max Red Bartlett’, ‘CIAM CO9’ y ‘CIAM CO107’ (SJ = 0,46); 3) ‘Rabuda3’ y ‘CIAM CO99’ (SJ = 0,50); 4) ‘San Germán’, ‘Tardía Noviembre’, y ‘Tardía3’ (SJ = 0,73); 5) ‘De San Antonio’ con ‘De San Juan1’ (SJ = 0,91); 6) ‘Compota1’ y ‘Canela Octubre’ (SJ = 0,61); 7) ‘CIAM LU206’ y ‘Verdilarga’ (SJ = 0,40); 8) ‘De Agosto3’ y ‘Manteca Blanca’ (SJ = 0,69); 9) ‘Rabuda Parda’ y ‘San Breixo’ (SJ = 0,50); y 10) ‘Ercolini’ y ‘Precoce Morettini’ (SJ = 0,47). El rango de similaridad de estos grupos varió entre 0,40 y 0,91 y mostraron bootstraps entre 51 y 100%.

El grupo 2 incluyó tres genotipos relacionados por hibridación con el cultivar ‘Williams’ (Tabla 26). En otras especies ya se describieron la existencia de linajes derivados de cultivares importantes, como en castaño (Pereira-Lorenzo et al., 2011) y en la vid (Díaz-Losada et al., 2010). Cuatro comerciales de referencia estuvieron implicadas en relaciones de parentesco, ‘Williams’ relacionada con ‘Max Red Bartlett’ y ‘Precoce Morettini’ con ‘Ercolini’. Los genotipos relacionadas por hibridación se encuentran desde el nivel de similitud de 0,40 SJ, pero no todos los genotipos con similitudes por encima de este valor estuvieron directamente relacionados con la hibridación, pero sí a partir de 0,68 (14 de 23 genotipos).

‘San Germán’ es un triploide relacionado con ‘Tardía3’ como resultado de la unión de un óvulo o espermatozoide no reducido con un gameto normal, como explicó Einset (1952) en manzano y se confirmó mediante análisis de microsatélites por Ramos-Cabrer et al. (2007), explicando como ‘Boskoop’ (triploide) procede de ‘Reinette de Caux’ (diploide), ambos cultivares de los Países Bajos. El cultivar ‘San Germán’, ha presentado al menos un alelo de ‘Tardía3’ para los 20 loci y además un alelo extra en 12 loci

(CH01d03, CH01d09, CH01f07a, CH02b10, CH02c11, CH05a02a, CH05a02b, CH05c06, CH-VF1, EMPc11, GD142 y GD147) (Tabla 26).

La hibridación como mecanismo de diversificación de los cultivares en el noroeste peninsular ha sido demostrado en otras especies como la vid (Díaz-Losada et al., 2010) y castaño (Pereira-Lorenzo et al., 2011). En castaño, el porcentaje de individuos relacionados por hibridación ascendió al 36% (Pereira-Lorenzo et al., 2011), porcentaje superior al encontrado en este trabajo con el 16%. Esta diferencia puede deberse a que el estudio de castaño se ha realizado en las plantaciones existentes, con árboles de más de 100 años de edad, donde se pudieron detectar numerosos cultivares originados a partir de 10 cultivares relevantes de España y Portugal, mientras que en el estudio de peral se trata de una colección en la que los recolectores trataron de incorporar el máximo de variabilidad.

Tabla 26. Alelos (pb) encontrados en 20 loci en los genotipos de peral relacionados por hibridación de Galicia y cultivares comerciales de referencia.

Grupo	Genotipo	CH01d03		CH01d08		CH01d09		CH01f07a		CH02b10		CH02c09		CH02c11		CH02d11		CH03d12		CH03g07							
1	CIAM CO70	<u>149</u>	<u>149</u>	<u>276</u>	<u>286</u>	<u>138</u>	<u>151</u>	<u>157</u>	<u>182</u>	<u>184</u>	<u>190</u>	<u>120</u>	<u>132</u>	<u>229</u>	<u>241</u>	<u>245</u>	<u>227</u>	<u>239</u>	<u>101</u>	<u>111</u>	<u>121</u>	<u>108</u>	<u>125</u>	<u>226</u>	<u>242</u>		
1	Manteca Oro1	<u>149</u>	<u>149</u>	<u>276</u>	<u>286</u>	<u>138</u>	<u>151</u>	<u>157</u>	<u>182</u>	<u>184</u>	<u>190</u>	<u>120</u>	<u>126</u>	132	<u>229</u>	<u>245</u>	<u>227</u>	<u>239</u>	<u>101</u>	<u>111</u>	<u>121</u>	<u>108</u>	<u>125</u>	<u>226</u>	<u>242</u>		
2	Williams	<u>132</u>	<u>149</u>	<u>239</u>	<u>276</u>	<u>149</u>	<u>157</u>		<u>177</u>	<u>184</u>		<u>120</u>	<u>126</u>		<u>237</u>	<u>245</u>	<u>219</u>	<u>239</u>	<u>109</u>	<u>111</u>		<u>108</u>	<u>125</u>	<u>226</u>	<u>242</u>		
2	Max Red Bartlett	<u>132</u>	<u>149</u>	<u>239</u>	<u>276</u>	<u>149</u>	<u>157</u>		<u>177</u>	<u>184</u>		<u>120</u>	<u>120</u>		<u>237</u>	<u>245</u>	<u>219</u>	<u>239</u>	-	-		<u>108</u>	<u>125</u>	<u>226</u>	<u>242</u>		
2	CIAM CO9	<u>149</u>	<u>149</u>	<u>239</u>	<u>278</u>	<u>138</u>	<u>149</u>		<u>177</u>	<u>190</u>		<u>126</u>	<u>132</u>		<u>237</u>	<u>245</u>	<u>215</u>	<u>219</u>	<u>109</u>	<u>111</u>		<u>125</u>	<u>125</u>	<u>226</u>	<u>256</u>		
2	CIAM CO107	<u>132</u>	<u>136</u>	<u>239</u>	<u>278</u>	<u>149</u>	<u>153</u>		<u>177</u>	<u>190</u>		<u>120</u>	<u>126</u>		<u>237</u>	<u>245</u>	<u>215</u>	<u>239</u>	<u>111</u>	<u>117</u>		<u>108</u>	<u>125</u>	<u>232</u>	<u>242</u>		
3	Rabuda3	<u>132</u>	<u>149</u>	<u>276</u>	<u>282</u>	<u>134</u>	<u>157</u>		<u>177</u>	<u>190</u>		<u>120</u>	<u>130</u>		<u>239</u>	<u>239</u>	<u>239</u>	<u>239</u>	<u>111</u>	<u>117</u>		<u>108</u>	<u>112</u>	<u>226</u>	<u>242</u>		
3	CIAM CO99	<u>134</u>	<u>149</u>	<u>276</u>	<u>282</u>	<u>134</u>	<u>157</u>		<u>184</u>	<u>190</u>		<u>130</u>	<u>130</u>		<u>239</u>	<u>245</u>	<u>237</u>	<u>239</u>	<u>113</u>	<u>117</u>		<u>112</u>	<u>125</u>	<u>242</u>	<u>256</u>		
4	Tardía3	<u>136</u>	<u>140</u>	<u>278</u>	<u>278</u>	<u>138</u>	<u>151</u>		<u>190</u>	<u>194</u>		<u>118</u>	<u>136</u>		<u>245</u>	<u>245</u>	<u>215</u>	<u>217</u>	<u>111</u>	<u>121</u>		<u>110</u>	<u>125</u>	<u>232</u>	<u>232</u>		
4	San Germán	<u>136</u>	<u>140</u>	149	<u>278</u>	<u>278</u>	<u>138</u>	<u>151</u>	153	<u>190</u>	<u>194</u>	199	<u>118</u>	<u>120</u>	136	<u>241</u>	<u>245</u>	<u>215</u>	<u>217</u>	241	<u>111</u>	<u>121</u>	<u>110</u>	<u>125</u>	<u>232</u>	<u>242</u>	
4	Tardía Noviembre	<u>136</u>	<u>140</u>	149	<u>278</u>	<u>278</u>	<u>138</u>	<u>151</u>		<u>190</u>	<u>194</u>	199	<u>118</u>	<u>118</u>		<u>239</u>	<u>245</u>	<u>215</u>	<u>217</u>	241	<u>111</u>	<u>121</u>	<u>110</u>	<u>125</u>	<u>232</u>	<u>242</u>	
5	De San Juan1	<u>145</u>	<u>187</u>	<u>276</u>	<u>278</u>	<u>143</u>	<u>155</u>		<u>209</u>	<u>209</u>		<u>128</u>	<u>128</u>		<u>237</u>	<u>245</u>	<u>217</u>	<u>223</u>	<u>95</u>	<u>121</u>		<u>91</u>	<u>116</u>	<u>232</u>	<u>232</u>		
5	De San Antonio	<u>145</u>	<u>187</u>	<u>276</u>	<u>278</u>	<u>143</u>	<u>155</u>		<u>209</u>	<u>209</u>		<u>128</u>	<u>128</u>		<u>237</u>	<u>245</u>	<u>217</u>	<u>223</u>	<u>95</u>	<u>121</u>		<u>91</u>	<u>116</u>	<u>232</u>	<u>232</u>		
6	Canela Octubre	<u>130</u>	<u>136</u>	<u>278</u>	<u>286</u>	<u>153</u>	<u>157</u>		<u>190</u>	<u>190</u>		<u>126</u>	<u>136</u>		<u>229</u>	<u>245</u>	<u>215</u>	<u>215</u>	<u>101</u>	<u>117</u>		<u>108</u>	<u>125</u>	<u>232</u>	<u>245</u>		
6	Compota1	<u>130</u>	<u>136</u>	<u>278</u>	<u>286</u>	<u>153</u>	<u>157</u>		<u>190</u>	<u>190</u>		<u>126</u>	<u>126</u>		<u>229</u>	<u>245</u>	<u>215</u>	<u>217</u>	<u>101</u>	<u>117</u>		<u>108</u>	<u>125</u>	<u>226</u>	<u>232</u>		
7	CIAM LU206	<u>136</u>	<u>145</u>	<u>282</u>	<u>294</u>	<u>138</u>	<u>143</u>		<u>194</u>	<u>209</u>		<u>130</u>	<u>136</u>		<u>243</u>	<u>245</u>	<u>215</u>	<u>217</u>	<u>95</u>	<u>117</u>		<u>112</u>	<u>125</u>	<u>226</u>	<u>232</u>		
7	Verdilarga	<u>136</u>	<u>136</u>	<u>278</u>	<u>282</u>	<u>138</u>	<u>143</u>		<u>188</u>	<u>209</u>		<u>120</u>	<u>130</u>		<u>237</u>	<u>243</u>	<u>215</u>	<u>247</u>	<u>101</u>	<u>117</u>		<u>114</u>	<u>125</u>	<u>226</u>	<u>228</u>		
8	Manteca Blanca	<u>132</u>	<u>134</u>	<u>276</u>	<u>282</u>	<u>153</u>	<u>157</u>		<u>182</u>	<u>184</u>		<u>130</u>	<u>130</u>		<u>237</u>	<u>245</u>	<u>215</u>	<u>239</u>	<u>111</u>	<u>117</u>		<u>108</u>	<u>125</u>	<u>226</u>	<u>256</u>		
8	De Agosto3	<u>134</u>	<u>134</u>	<u>276</u>	<u>282</u>	<u>134</u>	<u>153</u>	<u>157</u>	<u>182</u>	<u>184</u>	192	<u>130</u>	<u>136</u>		<u>237</u>	<u>245</u>	<u>215</u>	<u>237</u>	239	<u>111</u>	<u>117</u>	119	<u>108</u>	<u>125</u>	<u>226</u>	<u>256</u>	
9	Rabuda Parda	<u>132</u>	<u>136</u>	151	<u>239</u>	<u>276</u>	<u>119</u>	<u>136</u>	<u>140</u>	<u>173</u>	<u>197</u>	<u>122</u>	<u>134</u>		<u>237</u>	<u>241</u>	<u>249</u>	<u>221</u>	<u>237</u>	<u>115</u>	<u>121</u>		<u>112</u>	<u>112</u>	<u>236</u>	<u>242</u>	248
9	San Breixo	<u>134</u>	<u>136</u>	149	<u>239</u>	<u>276</u>	286	<u>119</u>	<u>130</u>	<u>140</u>	<u>173</u>	<u>182</u>	<u>197</u>		<u>243</u>	<u>245</u>	<u>249</u>	<u>215</u>	<u>237</u>	239	<u>111</u>	<u>121</u>	<u>112</u>	<u>125</u>	<u>228</u>	<u>236</u>	248
10	Ercolini	<u>130</u>	<u>134</u>		<u>278</u>	<u>282</u>	<u>140</u>	<u>157</u>		<u>184</u>	<u>190</u>		<u>130</u>	<u>130</u>		<u>237</u>	<u>245</u>	<u>215</u>	<u>217</u>	<u>95</u>	<u>117</u>		<u>91</u>	<u>108</u>	<u>256</u>	<u>266</u>	
10	Precoce Morettini	<u>130</u>	<u>132</u>		<u>276</u>	<u>282</u>	<u>140</u>	<u>157</u>		<u>177</u>	<u>190</u>		<u>120</u>	<u>130</u>		<u>237</u>	<u>237</u>	<u>217</u>	<u>219</u>	<u>111</u>	<u>117</u>		<u>108</u>	<u>125</u>	<u>242</u>	<u>256</u>	
11	Nijisseiki	<u>151</u>	<u>151</u>		<u>280</u>	<u>280</u>	<u>155</u>	<u>155</u>		<u>181</u>	<u>181</u>		<u>122</u>	<u>132</u>		<u>249</u>	<u>255</u>	<u>225</u>	<u>237</u>	<u>115</u>	<u>115</u>	<u>93</u>	<u>112</u>	<u>252</u>	<u>258</u>		
11	Shinseiki	<u>149</u>	<u>149</u>		<u>280</u>	<u>280</u>	<u>155</u>	<u>155</u>		<u>181</u>	<u>181</u>		<u>122</u>	<u>132</u>		<u>247</u>	<u>255</u>	<u>225</u>	<u>237</u>	<u>115</u>	<u>115</u>	-	-	<u>252</u>	<u>258</u>		

Tabla 26 (Continuación). Alelos (pb) encontrados en 20 loci en los genotipos de peral relacionados por hibridación de Galicia y cultivares comerciales de referencia.

Grupo	Genotipo	CH04c07		CH04e03		CH05a02a		CH05a02b		CH05c06		CH-Vfl			EMPe11		EMPe117		GD142		GD147								
1	CIAM CO70	80	<u>124</u>	132	<u>180</u>	180	<u>103</u>	109	<u>113</u>	117	<u>87</u>	91	<u>130</u>	138	150	<u>142</u>	149	88	<u>115</u>	<u>154</u>	168	<u>125</u>	127						
1	Manteca Oro1	116	<u>124</u>		<u>180</u>	205	<u>103</u>	109	111	<u>113</u>	117	<u>87</u>	91	<u>130</u>	138	150	<u>142</u>	149	<u>115</u>	117	<u>154</u>	168	<u>125</u>	127					
2	Williams	132	<u>149</u>		<u>180</u>	<u>205</u>	<u>103</u>	103	<u>111</u>	<u>113</u>		<u>87</u>	<u>91</u>	<u>150</u>	<u>150</u>		149	<u>149</u>	88	<u>115</u>	168	<u>168</u>	<u>125</u>	125					
2	Max Red Bartlett	132	<u>149</u>	<u>180</u>	<u>205</u>	<u>103</u>	103	<u>111</u>	113	<u>87</u>		91	<u>150</u>	150		149	<u>149</u>	115	<u>115</u>	168	<u>168</u>	<u>125</u>	135						
2	CIAM CO9	80	<u>132</u>		<u>180</u>	<u>205</u>	<u>103</u>	103	<u>111</u>	113	<u>87</u>	91	<u>128</u>	<u>150</u>		149	<u>149</u>	113	<u>115</u>	154	<u>168</u>	<u>125</u>	125						
2	CIAM CO107	149	<u>149</u>		<u>180</u>	<u>205</u>	<u>103</u>	103	<u>113</u>	117	<u>91</u>	97	<u>128</u>	<u>150</u>		138	<u>149</u>	<u>115</u>	115	168	<u>168</u>	<u>125</u>	125						
3	Rabuda3	<u>80</u>	149		<u>180</u>	205	<u>103</u>	103	<u>113</u>	113	91	<u>91</u>	<u>150</u>	150		149	<u>149</u>	115	<u>119</u>	<u>162</u>	168	<u>125</u>	125						
3	CIAM CO99	<u>80</u>	112		<u>180</u>	180	<u>103</u>	103	<u>113</u>	113	87	<u>91</u>	<u>150</u>	150		142	<u>149</u>	113	<u>119</u>	<u>162</u>	166	<u>125</u>	125						
4	Tardia3	<u>80</u>	80		<u>180</u>	180	<u>107</u>	109	<u>113</u>	123	87	111	<u>130</u>	152		138	<u>149</u>	117	<u>117</u>	<u>166</u>	176	<u>127</u>	133						
4	San Germán	<u>80</u>	80		<u>180</u>	180	105	<u>107</u>	109	111	<u>113</u>	123	87	91	111	<u>130</u>	148	152	138	<u>149</u>	155	97	<u>117</u>	<u>166</u>	176	180	<u>127</u>	133	143
4	Tardia Noviembre	<u>80</u>	80		<u>180</u>	180	105	<u>107</u>		111	<u>113</u>		87	91		111	<u>130</u>	148	152	138		<u>149</u>	97	<u>117</u>	<u>166</u>		176	<u>127</u>	
5	De San Juan1	80	<u>122</u>		<u>180</u>	180	<u>103</u>	103	<u>111</u>	111	<u>91</u>	91	<u>132</u>	132			<u>138</u>	144	<u>115</u>	115	<u>156</u>	162	<u>125</u>	129					
5	De San Antonio	122	<u>122</u>		<u>180</u>	180	<u>103</u>	103	<u>111</u>	111	<u>91</u>	91	<u>132</u>	138		<u>138</u>	144	<u>115</u>	115	<u>156</u>	162	<u>125</u>	125						
6	Canela Octubre	124	<u>124</u>		<u>198</u>	205	<u>103</u>	105	115	<u>117</u>	<u>91</u>	97	<u>128</u>	146		<u>138</u>	142	115	<u>119</u>	<u>162</u>	168	<u>125</u>	125						
6	Compota1	<u>80</u>	124		198	<u>198</u>	<u>103</u>	103	<u>117</u>	121	87	<u>91</u>	<u>128</u>	146		<u>138</u>	153	97	<u>119</u>	158	168	<u>125</u>	125						
7	CIAM LU206	80	<u>120</u>		<u>180</u>	180	<u>103</u>	105	<u>115</u>	121	87	111	<u>148</u>	150		<u>144</u>	149	93	117	147	<u>162</u>	<u>127</u>	135						
7	Verdilarga	<u>120</u>	145		<u>180</u>	205	<u>103</u>	105	113	<u>115</u>	87	111	130	<u>148</u>		138	<u>144</u>	93	93	138	<u>162</u>	<u>125</u>	127						
8	Manteca Blanca	124	<u>149</u>		<u>180</u>	180	103	<u>107</u>	<u>113</u>	117	87	93	128	<u>150</u>		<u>149</u>	153	155	<u>113</u>	115	<u>162</u>	166	<u>125</u>	125					
8	De Agosto3	80	<u>149</u>		<u>180</u>	205	103	<u>107</u>	<u>113</u>	117	87	91	93	128	<u>150</u>	<u>149</u>	153		<u>113</u>	115	156	<u>162</u>	166	<u>125</u>	154				
9	Rabuda Parda	<u>122</u>	122		<u>180</u>	180	<u>103</u>	107	<u>113</u>	119	91	<u>91</u>		150	<u>150</u>		134		<u>149</u>	<u>117</u>	119	<u>154</u>		162	<u>125</u>	127	143		
9	San Breixo	<u>122</u>	122		<u>180</u>	180	<u>103</u>	107	113	<u>115</u>	119	87	<u>91</u>	130	<u>150</u>	149	<u>149</u>	88	<u>117</u>	138	<u>154</u>	<u>125</u>	127						
10	Ercolini	94	<u>132</u>		<u>180</u>	180	<u>103</u>	103	<u>113</u>	117		<u>93</u>	111	<u>132</u>	156		<u>138</u>	149	<u>115</u>	115	150	<u>166</u>	<u>125</u>	133					
10	Precoce Morettini	132	<u>132</u>		<u>180</u>	205	<u>103</u>	103	<u>113</u>	113	91	<u>93</u>	<u>132</u>	148		<u>138</u>	149	<u>115</u>	115	150	<u>166</u>	<u>125</u>	125						
11	Nijisseiki	94	100		<u>188</u>	188	<u>105</u>	105	<u>113</u>	113	83	105	<u>130</u>	130		144	<u>153</u>	<u>105</u>	105	<u>140</u>	143	<u>135</u>	135						
11	Shinseiki	94	100		<u>188</u>	188	<u>105</u>	105	<u>113</u>	113	83	105	<u>130</u>	130		142	<u>153</u>	<u>105</u>	105	<u>140</u>	143	<u>135</u>	135						

A partir de un nivel de similitud del 17% ($SJ = 0,17$), el 87% de los genotipos del CIAM se han agrupado en dos clusters con cultivares comerciales de referencia (Tabla 27). Uno de ellos (grupo 3) incluyó 54 genotipos, uno de ellos el cultivar comercial de referencia ‘Mantecosa Hardy’ (‘Beurré Hardy’). Este cultivar es de origen francés, y ha sido descrito por primera vez en 1820, y comercializado a partir de 1840 (Brooks y Olmo, 1997). Otro agrupamiento (grupo 5) incluyó 56 genotipos del CIAM y varios cultivares comerciales.

Tabla 27. Grupos formados al nivel de 17% de similitud genética en el dendrograma generado por el coeficiente de Jaccard y el método UPGMA para los genotipos de peral de Galicia y variedades de referencia utilizando 19 SSRs.

Grupos	Nº de genotipos	Genotipos del CIAM	Cultivares de referencia presentes
1	4	Portuguesa	Shinseiki, Nijisseiki, Hosui
2	1	-	Chanticleer
3	54	Aguacenta, Barrosa, Bonita, CIAM CO51, CIAM CO87, CIAM LU189, CIAM OU229, CIAM OU238, CIAM CO39, Compota2, Conseridonia, Da Campaña, Da Sementeira, De Agosto1, De Codorno2, De Invierno1, De Invierno3, De Noviembre, De San Juan4, Donguindo, Donguindo3, Donguindo4, Doña Juana, Espigarda, Espín, Fariñentas o de Caba, Follá, Libra, Lourenzá, Manteca Canela Agosto, Manteca Oscura, Manteca Septiembre, Mendoza, Millarenga, Pardas, Peras de Espiño, Pero de Invierno, Pero de Navidad, Peros de Santos, Plateiras, Rabuda Parda, San Benito, San Breixo, San Luis, Sevillana, Tardía Invierno, Tardía1, Tardía2, Tenreiras, Urraca, Urraca Blanca, Urraca3, Verdiñas Septiembre	Mantecosa Hardy
4	4	De San Roque, Rabuda1, Rabuda2, Urraca2	-
5	56	Blanca Julio, Canela Octubre, Canela Pequeña, CIAM CO70, CIAM CO88, CIAM CO9, CIAM CO94, CIAM LU179, CIAM LU207, CIAM OU223, CIAM OU225, CIAM OU228, CIAM OU233, CIAM PT129, CIAM PT150, CIAM PT153, CIAM PT157, CIAM PT158, CIAM CO89, CIAM CO11, CIAM LU209, CIAM CO107, CIAM CO99, Compota3, Compota1, De Agosto2, De Agosto3, De Agosto4, De Agosto-Septiembre, De Invierno2, De Septiembre-Octubre, Espadón de Agua, Manteca Blanca, Manteca Blanca Grande, Manteca Oro1, Manteca Oro2, Rabuda 3, San Germán, Tardía Muy Grande, Tardía Noviembre, Tardía3, Tardía4, Urraca Grande	Abbe Fetel, Blanquilla Doyenné du Comice, Conference, Ercolini, General Leclerc, Dr. Jules Guyot, Tosca Mediana, Roma, Max Red Bartlett, Passe Crassane, Precoce Morettini, Williams
6	2	CIAM LU214, CIAM OU231	-
7	1	De Santiago2	-
8	5	CIAM LU206, De San Juan2, De San Juan3, Peros San Martiño, Verdilarga	-
9	1	Peros Amargos	-
10	1	CIAM LU172	-
11	5	Barburiñas, De Santiago1, Peros Miudos, Rabo Largo, Temprana Agosto	-
12	1	Pero	-
13	1	Redonda Agosto	-
14	2	CIAM CO30, CIAM CO22	Castell
15	2	De San Antonio, De San Juan1	-
16	1	De Codorno1	-
17	1	CIAM CO18	-
18	1	CIAM OU226	-
19	1	-	Péndula

La identificación de repeticiones (Tabla 17) e introgresiones en la colección del CIAM permitió renombrar los genotipos únicos para evitar futuras confusiones (Tabla 28). Los criterios utilizados han sido descritos en el apartado 4.1.1.

Tabla 28. Denominaciones iniciales y finales para los perales del CIAM (Xunta de Galicia) agrupados por genotipos únicos.

Códigos	Denominaciones Iniciales	Denominación Final
PT125	Aguacenta	Aguacenta
CO1, CO73, PT118	Pera de Julio, Barburíñas, Barburíñas	Barburíñas
CO62	Barrosa	Barrosa
CO42	Blanca Julio	Blanca Julio
OU237	Verdeales	Blanquilla
PT135	Bonita	Bonita
CO37, CO77	Canela Octubre, Parece Clairgeau	Canela Octubre
CO38	Canela Pequeña	Canela Pequeña
OU224	Desconocida	Castell
CO9	Tipo Manteca Temprana	CIAM CO9
CO11, LU195	Jugosa Tardía, De Septiembre	CIAM CO11
CO18	Pera de Junio	CIAM CO18
CO22	Pera de Julio	CIAM CO22
CO30, CO54	Pera de Junio, Pera Blanca Primeros de Julio	CIAM CO30
CO39, LU208	Suiza Desección, Desconocida	CIAM CO39
CO51	Pera Dulce	CIAM CO51
CO70	Donguindo	CIAM CO70
CO87	Desconocida	CIAM CO87
CO88	Desconocida	CIAM CO88
CO89, PT154	Desconocida, Desconocida	CIAM CO89
CO94	Desconocida	CIAM CO94
LU172	Desconocida	CIAM LU172
LU179	Desconocida	CIAM LU179
LU189	Parece Bosc	CIAM LU189
LU206	Desconocida	CIAM LU206
LU207	Desconocida	CIAM LU207
LU214	Desconocida	CIAM LU214
OU223	Desconocida	CIAM OU223
OU225	Desconocida	CIAM OU225
OU228	Desconocida	CIAM OU228
OU229	Desconocida	CIAM OU229
OU231	Desconocida	CIAM OU231
OU233	Desconocida	CIAM OU233
OU238	Desconocida	CIAM OU238
PT129	Desconocida	CIAM PT129
PT150	Desconocida	CIAM PT150
PT153	Desconocida	CIAM PT153
PT157	Desconocida	CIAM PT157
PT158	Desconocida	CIAM PT158
OU230, OU226	Desconocida, Desconocida	CIAM OU226
LU209, OU232	Desconocida, Desconocida	CIAM LU209
CO107, LU170, OU234	Manteca, Desconocida, Desconocida	CIAM CO107

Tabla 28 (Continuación). Denominaciones iniciales y finales para los perales del CIAM (Xunta de Galicia) agrupados por genotipos únicos.

Códigos	Denominaciones Iniciales	Denominaciones Finales
CO99, OU239, PT143	Moi Boa, Parecida Williams, Grande Harinosa	CIAM CO99
LU178, PT152	Desconocida, Pera Compota	Compota1
CO31, LU202	Compota Tardía, Rabuda de Compota	Compota2
LU201	De Compota	Compota3
CO104 PT147	Conseridonia, Campana	Conseridonia
PT124	Da Campaiña	Da Campaiña
OU218	Da Sementeira	Da Sementeira
LU191, LU192, OU241, OU243	De Agosto, Pera de Santiago, Desconocida, Desconocida	De Agosto1
LU174, OU227	De Agosto, Desconocida	De Agosto2
LU186, CO74	De Agua, Manteca Oscura	De Agosto3
CO97	De Agosto	De Agosto4
CO111, CO113	Agosto-Septiembre, De Agosto	De Agosto-Septiembre
CO50	Pera de Codorno	De Codorno1
CO90	Codorno	De Codorno2
CO61	De Invierno	De Invierno1
LU171	De Invierno	De Invierno2
CO67	Pera Invierno	De Invierno3
CO103	Pera de Noviembre	De Noviembre
PT160	De San Antonio	De San Antonio
PT116, PT155, OU240, OU220	Pera San Juan, Desconocida, Perifotes, San Xoan	De San Juan1
CO83	Pera San Juan	De San Juan2
PT151	Pera San Juan	De San Juan3
CO95	De San Xoán	De San Juan4
OU244	De San Roque	De San Roque
CO47	Peros Santiago	De Santiago1
PT161	De Santiago	De Santiago2
CO109, CO108	De Octubre, De Septiembre	De Septiembre-Octubre
CO5, CO16, CO32, CO36	Barburiña, Donguindo, Pera Fidalga (Donguindo), Pera Limón	Donguindo
CO25	Donguindo	Donguindo3
CO40	Donguindo	Donguindo4
LU185	Doña Juana	Doña Juana
LU177	Espadón de Agua	Espadón de Agua
LU184	Espigarda	Espigarda
LU203, LU211, LU197	Pardas de Noviembre, Pera Espin, San Lucas	Espín
LU200	Fariñentas o de Cabana	Fariñentas o de Cabana
CO26	Follá	Follá
CO52, LU205, OU245	Pera Libra, Desconocida, Pereiro	Libra
CO60, LU188	Pera Lourenza, Santiaguesa	Lourenzá
LU187	Manteca Blanca	Manteca Blanca
CO27, CO43, CO64, OU221	Manteca Blanca Grande, Manteca Blanca Agosto De Julio, Desconocida	Manteca Blanca Grande
CO55	Manteca Canela Agosto	Manteca Canela Agosto
CO14, CO21, CO56, CO66, CO101, PT114, OU215	Grande Campana, Manteca Oro, Manteca Oro, Manteca Oro, Duquesa de Angulema, Desconocida, Desconocida	Manteca Oro1
OU217	Manteca Oro	Manteca Oro2

Tabla 28 (Continuación). Denominaciones iniciales y finales para los perales del CIAM (Xunta de Galicia) agrupados por genotipos únicos.

Códigos	Denominaciones Iniciales	Denominaciones Finales
LU168, LU193, LU194	Manteca Septiembre, Pera Canela, Parda de Septiembre	Manteca Septiembre
CO3, CO6, CO8, CO44, CO65, CO76, CO82, CO93, PT115, PT136, PT156, LU180, LU190, OU219	Manteca Dorada, Manteca Morena, Mantecosa Grande, Manteca Oscura, Manteca Oscura, Manteca, Desconocida, Desconocida, Manteca Oscura, Bergamota, San Roque, Donguindo, Desconocida Pereira	Manteca Oscura
CO110, PT134	Desconocida, Desconocida	Mantecosa Hardy
CO34	Mendoza	Mendoza
CO4	Millarenga	Millarenga
PT164	Pardas	Pardas
CO58	Peras de Espiño	Peras de Espiño
LU196	Pero	Pero
PT123	Pero de Invierno	Pero de Invierno
PT165	Pero de Navidad	Pero de Navidad
PT167	Peros Amargos	Peros Amargos
CO100	Peros de Santos	Peros de Santos
CO49	Peros Miudos	Peros Miudos
CO48	Peros Raposos	Peros Raposos
CO46	Peros San Martiño	Peros San Martiño
CO63	Plateiras	Plateiras
CO19	Portuguesa	Portuguesa
CO84, PT133, PT140	Desconocida, Rabo Largo, Desconocida	Rabo Largo
CO28	Rabuda Parda	Rabuda Parda
CO23, CO17	Rabuda, Rabuda (Pé de Col)	Rabuda1
CO79	Rabuda	Rabuda2
PT144, CO96	Manteca 1ª de Agosto, Rabuda	Rabuda3
LU169	Redonda Agosto	Redonda Agosto
OU235	Perón Navidad	Roma
CO10, CO41, PT166	San Benito 18 Julio, Amarilla Junio, Pera Roja,	San Benito
PT132	San Breixo	San Breixo
CO69	San Germán	San Germán
CO102, PT121	Pera de San Luis, Desconocida	San Luis
CO2, CO45, PT120, PT122, LU199	Sevillana, Sevillana, Sevillana, Urraca Blanca, Rabuda o Pera do Pozo	Sevillana
CO86	Tardía Invierno	Tardía Invierno
CO12	Tardía Muy Grande	Tardía Muy Grande
CO24	Tardía Noviembre	Tardía Noviembre
CO106	Tardía	Tardía1

Tabla 28 (Continuación). Denominaciones iniciales y finales para los perales del CIAM (Xunta de Galicia) agrupados por genotipos únicos.

Códigos	Denominaciones Iniciales	Denominaciones Finales
CO71	Tardía	Tardía2
CO85	Tardía	Tardía3
CO98	Tardía	Tardía4
CO72	Temprana Agosto	Temprana Agosto
CO75	Tenreiras	Tenreiras
CO7, CO15, CO33, CO53, CO57, CO68, CO80, CO81, CO91, CO105, CO112, PT117, PT146	Urraca Pequeña, Urraca Pequeña, Urraca Pequeña, Urraca Pequeña Agosto, Urracas, Urraca, Urraca Blanca, Desconocida, Urraca Urraca, Peros de Agosto-Septiembre, Urraca, Urraca Grande	Urraca
CO92, PT145	Urraca, Vagin	Urraca2
CO13	Urraca	Urraca3
PT137	Urraca Blanca	Urraca Blanca
CO35	Urraca Grande	Urraca Grande
OU216, OU246, OU236	Verdeñas, Desconocida, Verdeña	Verdeñas
CO29, PT119, LU173	Verdilarga, Verdilarga, Amarilla Agosto	Verdilarga
LU204	Verdiñas Septiembre	Verdiñas Septiembre
CO20, CO59, CO78	Desconocida, Pera Manteca, Urraca Grande	Williams

4.1.6 Estimación de la estructura genética

En un primer análisis, para determinar la estructura genética en los cultivares de peral del noroeste de España mediante el programa STRUCTURE (Pritchard et al., 2000), se han eliminado los SSRs que presentaban alelos nulos (CH02b10, CH03d12, CH04c07, CH-Vf1, y EMPc117) y los loci ligados CH01d08 y CH02d11. Los análisis se han realizado de forma independiente para los individuos diploides y triploides, siguiendo el procedimiento de Lo et al. (2009), debido a la imposibilidad de realizar un análisis conjunto.

Los resultados del programa STRUCTURE definen una serie de poblaciones reconstruidas ó RPPs ('Reconstructed Panmictic Populations'). La asignación de un individuo, o genotipo, a una RPP vino dada por la proporción de ancestría en cada RPP ('proportion of ancestry in each cluster', qI) elegida al 80%, como en trabajos previos de olivo (Breton et al., 2006), manzano (Pereira-Lorenzo et al., 2008) y castaño (Pereira-Lorenzo et al., 2010; 2011). Los genotipos con una probabilidad inferior ($qI < 80\%$) pueden proceder de varias RPPs.

El análisis de estructura para los 94 genotipos diploides produjo una máxima probabilidad para $K=2$ (ΔK), dos poblaciones reconstruidas, cuando se utilizó el método de Evanno et al. (2005). Sin embargo, como indican Evanno et al. (2005), y posteriormente demostrado en otros estudios en sorgo (Barnaud et al., 2007) y castaño (Pereira-Lorenzo et al., 2010, 2011), otros submáximos pueden indicar la presencia de subestructura. En este estudio dos submáximos secundarios fueron similares para $K=3$ y $K=4$. Cuando se analizaron los datos para $K=3$, se distinguieron las poblaciones reconstruidas correspondientes a dos grandes grupos de *P. communis*, uno con la variedad comercial 'Williams' y otras, el segundo con 'Mantecosa Hardy', y un tercero que agrupó cultivares asiáticos con algunas muestras gallegas. Los genotipos gallegos agrupados con los cultivares asiáticos no presentaron los alelos específicos de las asiáticas. Cuando se realizó un análisis similar con los 19 SSRs, $K = 4$ presentó un ΔK superior que $K=3$ (Figura 34).

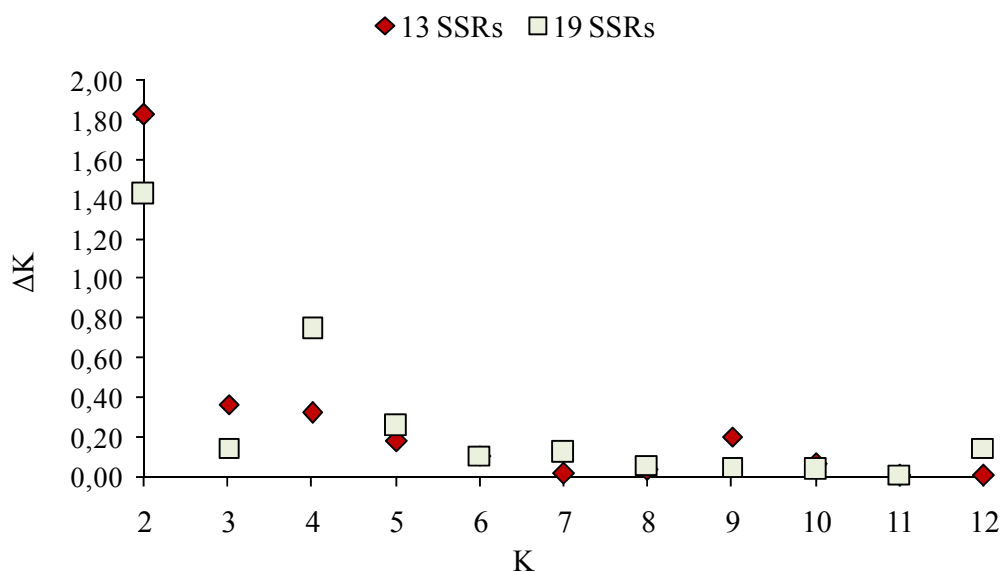


Figura 34. Valores de ΔK definidos por el método de Evanno et al. (2005) para la formación de los RPPs ('Reconstructed Panmictic Populations') para los 94 genotipos diploides de peral pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia) y variedades comerciales de referencia.

En los tres casos, $K=2$ a 4, hubo genotipos asignados con $qI > 80\%$. Para $K=2$ con 13 SSRs, la RPP1 agrupó el cultivar comercial 'Mantecosa Hardy', los cultivares asiáticos (tres) y 49 genotipos del CIAM (52 en total) (Tablas 29 y 30, Figura 35A, B). La RPP2 incluyó 12 cultivares de referencia, entre ellos 'Williams', y 30 cultivares del CIAM (42 genotipos en total). Los resultados fueron similares con 19 SSRs. Esta diferenciación genética entre las dos RPPs también se confirmó mediante un AFC (Figura 35C, D). Tanto con 19 SSRs, como con 13 SSRs, en el factor uno (F1) se acumuló el 100% de la variación y se diferenciaron las dos RPPs.

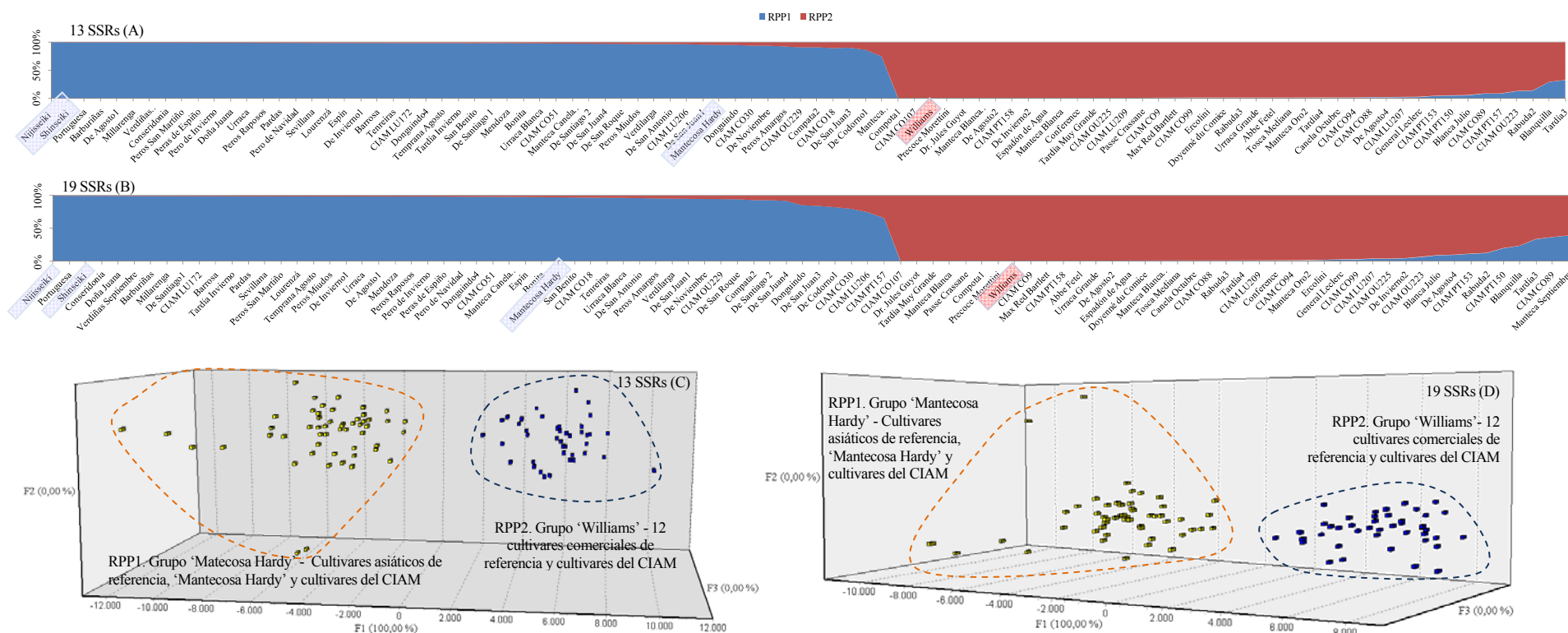


Figura 35. Poblaciones reconstruidas (RPPs) obtenidas mediante STRUCTURE (Pritchard et., 2000) para 94 genotipos diploides de peral pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia) y cultivares de referencia para K=2 mediante 13 (A, C) y 19 (B, D) SSRs.

Tabla 29. Asignación de 94 genotipos diploides de peral para K=2 poblaciones reconstruidas (RPPs) según STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 y 19 SSRs.

		13 SSR			Total genotipos	Total genotipos (%)
RPPs	Cultivares	No. genotipos $qI^1 > 80\%$	No. genotipos $qI < 80\%$	Rango de qI		
1	Mantecosa Hardy, cultivares asiáticos y del CIAM	51	1	1,00-0,75	52	55,32
2	Williams, 11 cultivares comerciales y del CIAM	40	2	1,00-0,67	42	44,68
Total		91	3		94	100

		19 SSR			Total genotipos	Total genotipos (%)
RPPs	Cultivares	No. genotipos $qI > 80\%$	No. genotipos $qI < 80\%$	Rango de qI		
1	Mantecosa Hardy, cultivares asiáticos y del CIAM	50	2	1,00-0,66	52	55,32
2	Williams, 11 cultivares comerciales y del CIAM	38	4	1,00-0,61	42	44,68
Total		88	6		94	100

¹Proporción de ancestría

En la RPP1 se agruparon el cultivar de referencia ‘Mantecosa Hardy’, los cultivares asiáticos (tres) y 49 cultivares del CIAM. En la RPP2 se agruparon los 12 cultivares de referencia, entre ellos ‘Williams’ y 30 cultivares del CIAM (Tabla 30).

Tabla 30. Genotipos diploides clasificados en las dos poblaciones reconstruidas (RPPs, K=2) por STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 y 19 SSRs.

RPPs	No. de genotipos		Genotipos del CIAM	Cultivares de referencia presentes
	19 SSRs	13 SSRs		
1	52	52	Barburiñas, Barrosa, Bonita, CIAM CO18, CIAM CO51, CIAM LU172, CIAM LU206 ¹ , CIAM OU229, CIAM PT157 ^{1,5} , CIAM CO30, Compota2, Conseridonia, De Agosto1, De Codorno1, De Invierno1, De Noviembre, De San Antonio, De San Juan1, De San Juan3, De San Juan4, De San Roque, De Santiago1, De Santiago2, Donguindo, Donguindo4, Doña Juana, Espín, Lourenzá, Manteca Canela Agosto, Mendoza, Millarenga, Pardas, Peras de Espiño, Pero de Invierno, Pero de Navidad, Peros Amargos, Peros Miudos, Peros Raposos, Peros San Martiño, Portuguesa, San Benito, Sevillana, Tardía Invierno, Temprana Agosto, Tenreiras, Urraca, Urraca Blanca, Verdilarga, Verdiñas Septiembre	Mantecosa Hardy, Shinseiki y Nijisseiki
2	42	42	Blanca Julio, Canela Octubre, CIAM CO88, CIAM CO9, CIAM CO94, CIAM LU207, CIAM OU223, CIAM OU225, CIAM PT150, CIAM PT153, CIAM PT158, CIAM CO89 ^{1,2} , CIAM OU209, CO107, CIAM CO99, Compota1, De Agosto2, De Agosto4, De Invierno2, Espadón de Agua, Manteca Blanca, Manteca Blanca Grande, Manteca Oro2, Manteca Septiembre ^{1,2,4,5} , Rabuda2, Rabuda3, Tardía Muy Grande, Tardía3 ^{1,2} , Tardía4, Urraca Grande,	Williams, Dr. Jules Guyot, Passa Crassane, Precoce Morettini, Conference, Abbe Fetel, Comice, Ercolini, General Leclerc, Tosca Mediana, Max Red Bartlett y Blanquilla ^{1,2}

¹Accesiones asignadas con $qI < 80\%$ para 19 SSRs y ²13 SSRs. Genotipos asignados con 19 SSRs: en la ³RPP1 y ⁵RPP2; y con 13 SSRs en la ⁴RPP1.

Para $K=4$ con 13 SSRs, los cultivares asiáticos se separaron de los cultivares gallegos (Tabla 31), y se mantuvieron los dos grandes grupos, uno integrado por ‘Williams’ como principal representante y el resto de cultivares comerciales, y otro grupo de cultivares gallegos (42 genotipos) (RPP1); y el segundo por ‘Mantecosa Hardy’ y cultivares del CIAM (32) (RPP2). Un grupo de cultivares del CIAM (19), con ‘Pero’ como cultivar principal, formaron parte de la RPP3. Los dos cultivares asiáticos ‘Nijisseiki’ y ‘Shinseiki’ formaron parte de la RPP4 con $qI > 80\%$ en los dos análisis (Figura 36E, F), con 19 y 13 SSRs, con $qI > 80\%$ y su diferenciación se confirmó mediante AFC (Figura 36A, D). Con 13 SSRs y cuatro RPPs, el F1 acumuló el 52,73%, separándose la RPP4 en la parte positiva del eje. Cuando se eliminó la RPP4 del análisis, el F1 acumuló el 59,47% de la variación total, y las otras RPPs mostraron una diferenciación máxima.

Tabla 31. Asignación de genotipos diploides a las 4 poblaciones reconstruidas (RPPs; $K=4$) mediante STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 y 19 SSRs.

13 SSR						
RPPs	Cultivares	No. genotipos $qI^1 > 80\%$	No. genotipos $qI < 80\%$	Rango de qI	Total genotipos	Total genotipos (%)
1	‘Williams’, 11 cultivares comerciales y del CIAM	40	1	0,99-0,50	41	43,62
2	‘Mantecosa Hardy’, cultivares asiáticos y del CIAM	26	6	0,99-0,51	32	34,04
3	‘Peros’	15	4	0,93-0,49	19	20,21
4	Cultivares asiáticos	2		0,99-0,99	2	2,13
Total		83	11		94	100
19 SSR						
RPPs	Cultivares	No. genotipos qI $> 80\%$	No. genotipos qI $< 80\%$	Rango de qI	Total genotipos	Total genotipos (%)
1	‘Williams’, 11 cultivares comerciales y del CIAM	36	5	0,99-0,56	41	43,62
2	‘Mantecosa Hardy’, cultivares asiáticos y del CIAM	28	3	0,99-0,50	31	32,98
3	‘Peros’	12	7	0,87-0,44	19	20,21
4	Cultivares asiáticos	2	1	1,00-0,59	3	3,19
Total		78	16		94	100

¹Proporción de ancestría

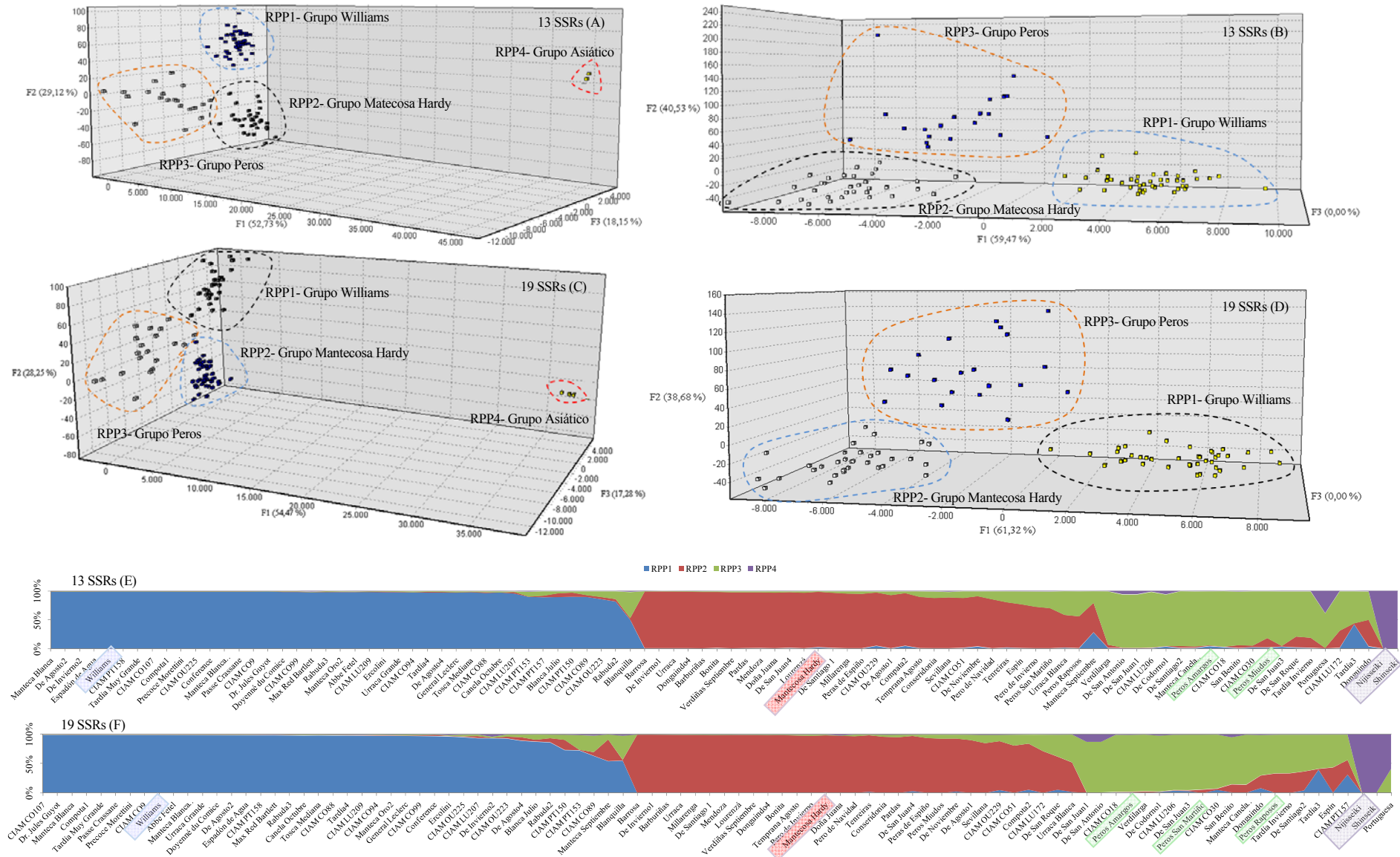


Figura 36. Cuatro poblaciones reconstruidas (RPP1 a 4) obtenidas con STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 (A, B, E) y 19 SSRs (C, D, F) a partir de 94 genotipos diploides de *Pyrus* spp. con (A, C) y sin (B, D) peras asiáticas.

Cuando se realizó un AMOVA entre provincias y cultivares de referencia, no se encontró diferenciación genética, tanto con 19 SSRs (1,30%; $P < 0,01$) como con 13 SSRs (1,20%; $P < 0,05$). La diferenciación genética aumentó cuando se consideraron las poblaciones reconstruidas con 19 SSRs, $K=2$ (8,30%) y $K=4$ (9,80%; $P < 0,001$), e incluso fue superior cuando se evaluaron las poblaciones reconstruidas con 13 SSRs, con un 9,30% para $K=2$ y un 13,20% para $K=4$ ($P < 0,001$) (Tabla 32). La diferenciación genética entre las diferentes RPPs fue del mismo nivel para los cultivares de peral (13,20%) con respecto a los cultivares de manzano de Galicia (14,40%) (Pereira-Lorenzo et al., 2008).

Tabla 32. AMOVAs para las agrupaciones originales y poblaciones reconstruidas (RPPs; $K=2$ y $K=4$) con el programa informático STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) determinados con 13 y 19 SSRs.

	GL ²	Variación (%)
19 SSR		
Provincias y cultivares de referencia		
Dentro de los grupos	5	98,70**
Entre los grupos	4	1,30**
2 RPPs (2n)		
Dentro de los RPPs	2	91,70***
Entre los RPPs	1	8,30***
4 RPPs		
Dentro de los RPPs	4	90,20***
Entre los RPPs	3	9,80***
3 RPPs ($K=4$, sin grupo asiático, $N^1=91$)		
Dentro de los RPPs	3	90,90***
Entre los RPPs	2	9,10***
3 RPPs con $qI > 80$ ($K=4$, sin grupo asiático, $N=76$)		
Dentro de los RPPs	3	88,20***
Entre los RPPs	2	11,80***
13 SSR		
Provincias y cultivares de referencia		
Dentro de los grupos	5	98,80*
Entre los grupos	4	1,20*
2RPPs		
Dentro de los RPPs	2	90,70***
Entre los RPPs	1	9,30***
4 RPPs		
Dentro de los RPPs	4	86,80***
Entre los RPPs	3	13,20***
4 RPPs (sin grupo asiático, $N=92$)		
Dentro de los RPPs	3	89,60***
Entre los RPPs	2	10,40***
4 RPPs con $qI > 80$ ($K=4$, sin grupo asiático, $N=81$)		
Dentro de los RPPs	3	88,10****
Entre los RPPs	2	11,90***

¹ Número de genotipos, ² grados de libertad, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Los valores R_{ST} y F_{ST} , estimados utilizando un modelo gradual de mutación y un modelo de alelos infinitos mediante el programa Genodive, fueron mínimos cuando se consideraron las provincias de origen de los genotipos y los cultivares de referencia, tanto con 13 SSRs, como con 19 SSRs (Tabla 33). Al realizar el análisis a partir de las poblaciones reconstruidas, la diferenciación genética aumentó. Con 19 SSRs, para dos poblaciones reconstruidas ($K=2$), el valor de R_{ST} fue del 6,80% y el de F_{ST} fue del 4,90% ($P<0,001$), mientras que para cuatro poblaciones reconstruidas ($K=4$) los valores aumentaron, con un R_{ST} del 7,50% y de F_{ST} del 6,30% ($P<0,001$). El mismo análisis con 13 SSRs, mostró un incremento en la diferenciación para $K=4$, con valores de R_{ST} del 9,90% y de F_{ST} del 8,20%.

Los máximos valores se obtuvieron para 4 poblaciones reconstruidas, cuando se analizaron los genotipos con $qI > 80\%$ y sin los cultivares asiáticos (Tabla 33). En todos los casos la diferenciación fue débil según los valores obtenidos de F_{ST} (inferiores al 10%), según el criterio de Weir y Cockerham (1984).

Los valores superiores de R_{ST} respecto de F_{ST} indican que la diferenciación genética es lo suficientemente antigua como para producir mutaciones específicas, como se ha encontrado también en cultivares de castaño en España (Pereira-Lorenzo et al., 2010).

Tabla 33. Valores de R_{ST} y F_{ST} para dos y cuatro poblaciones reconstruidas (RPPs) definidas por STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 y 19 SSRs, estimados con Genodive.

	R_{ST} (%)	F_{ST} (%)
19 SSRs		
Entre provincias y cultivares de referencia	0,70**	0,40**
Entre 2 RPPs ($K=2$)	6,80***	4,90***
Entre 4 RPPs ($K=4$)	7,50***	6,30***
Entre 3 RPPs ($K=4$, sin grupo asiático, $N^1=91$)	6,70***	5,50***
Entre 3 RPPs con $qI > 80\%$ ($K=4$, sin grupo asiático, $N=76$)	9,00***	7,10***
13 SSRs		
Entre provincias y cultivares de referencia	0,90 ^{ns}	0,60*
Entre 2 RPPs ($K=2$)	6,80***	5,10***
Entre 4 RPPs ($K=4$)	9,90***	8,20***
Entre 3 RPPs ($K=4$, quitando grupo asiático, $N=92$)	7,90***	5,90***
Entre 3 RPPs con $qI > 80\%$ ($K=4$, sin grupo asiático, $N=81$)	10,50***	6,70***

¹ Número de genotipos, * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$, ^{ns} no significativo.

Como hemos señalado, para 13 SSRs se definieron cuatro RPPs. Una primera población reconstruida (RPP1) incluyó 41 genotipos, 40 de ellos con $qI > 80\%$, 12 fueron variedades comerciales, con ‘Williams’ como la más importante. En la RPP1 se han clasificado el mayor número de cultivares comerciales con un número elevado de

genotipos del CIAM, entre ellos cuatro genotipos con el nombre de ‘Manteca’, aunque la variedad ‘Mantecosa Hardy’, que pudo dar origen a los nombres ‘Manteca’ en la colección del CIAM, fue clasificada en la RPP2 (Tabla 34).

Tabla 34. Genotipos diploides clasificados en las cuatro poblaciones reconstruidas (RPPs, K=4) por STRUCTURE (Pritchard et al., 2000) con 13 y 19 SSRs.

RPPs	Nº de genotipos		Denominaciones	Cultivares de referencia presentes
	19 SSRs	13 SSRs		
1	41	41	Blanca Julio, Canela Octubre, CIAM CO88, CIAM CO9, CIAM CO94, CIAM LU207, CIAM OU223, CIAM OU225, CIAM PT150 ¹ , CIAM PT153 ¹ , CIAM PT158, CIAM CO89 ¹ , CIAM LU209, CIAM CO107, CIAM CO99, Compota1, De Agosto2, De Agosto4, De Invierno2, Espadón de Agua, Manteca Blanca, Manteca Blanca Grande, Manteca Oro2, Manteca Septiembre ^{1,3,2,4} , Rabuda2, Rabuda3, Tardía Muy Grande, Tardía4, Urraca Grande	Williams, Dr. Jules Guyot, Passa Crassane, Precoce Morettini, Conference, Abbe Fetel, Comice, Ercolini, General Leclerc y, Tosca Mediana, Max Red Bartlett y Blanquilla ^{1,2}
2	31	32	Barburiñas, Barrosa, Bonita, CIAM CO51, CIAM LU172 ^{1,2,5,7} , CIAM OU229, Compota2, Conseridonia, De Agosto1, De Invierno1, De Noviembre, De San Juan4, De San Roque ^{1,5,8} , De Santiago1, Donguindo4, Doña Juana, Lourenzà, Mendoza, Millarenga, Pardas, Peras de Espiño, Pero de Invierno ² , Pero de Navidad, Peros Miudos, Sevillana, Temprana Agosto, Tenreiras, Urraca, Urraca Blanca ^{1,2} , Verdianas Septiembre	Mantecosa Hardy
3	19	19	CIAM CO18, CIAM LU206, CIAM PT157 ^{1,4,7} , CIAM CO30, De Codorno1, De San Antonio, De San Juan1, De San Juan3, De Santiago 2 ¹ , Donguindo ^{1,2} , Espín ^{1,2,6,7} , Manteca Canela Agosto, Peros Amargos, Peros Raposos ^{1,2,6,7} , Peros San Martiño ^{2,6,7} , San Benito, Tardía Invierno ¹ , Tardía3 ^{1,2} , Verdilarga	
4	3	2	Portuguesa ^{1,2,8,9}	Shinseiki y Nijisseiki

¹Genotipos asignados con *qI* <80% para 19 SSRs y ²13 SSRs. Genotipos asignados con 19 SSRs en la ³RPP1, ⁵RPP2, ⁷RPP3 y ⁹RPP4; y con 13 SSRs en la ⁴RPP1, ⁶RPP2 y ⁸RPP3

La segunda población reconstruida (RPP2) incluyó al cultivar comercial francés ‘Mantecosa Hardy’ (‘Beurré Hardy’), con un total de 32 genotipos, 26 de ellos con *qI* >80%, incluyendo la variedad más importante de Galicia, ‘Urraca’ (dos genotipos de ‘Urraca’ fueron clasificados en la RPP2 y uno en la RPP1). Los cultivares comerciales de peral fueron introducidos en Galicia antes de 1820, lo que puede explicar la relación de

‘Urraca’ con éstos. ‘Urraca’ es considerada como la pera francesa ‘Gourmandine’ por De Capmany (1817) y Núñez de Taboada (1859), y la ‘Pera-libra’ por Nugent (1808). Además, algunas accesiones de la RPP2 presentaron el nombre completo o parcial de ‘Manteca’ (Beurré en francés), lo que podría explicar su relación con ‘Mantecosa Hardy’. La introducción de variedades francesas en Galicia también se produjo en otros cultivos como la vid (Díaz-Losada et al., 2010), quienes mostraron el origen de algunas de las principales variedades de vid gallegas con la francesa ‘Trousseau’ (sinónimo ‘Merenzao’). Los escritos de la época, indican que a partir del siglo VIII, las órdenes religiosas procedentes de Francia realizaron plantaciones de manzanos, perales y de vid en Galicia (Huetz de Lemp, 1967).

En la tercera población reconstruida (RPP3) se agruparon 19 genotipos, 15 de ellos fueron variedades locales con $qI > 80\%$. ‘Verdilarga’, cultivar citado en 1747 (Brooks y Olmo, 1997), se asignó a la RPP3, aunque con $qI < 80\%$, lo que podría explicar un origen más complejo a partir de varias RPPs, e incluso de los perales silvestres de la especie *P. cordata*, ampliamente difundida en Galicia (Aedo y Aldasoro, 1998). Los ‘Peros’ fueron clasificados tanto en la RPP2 (tres) como en la RPP3 (tres). La clasificación de las denominaciones en más de una RPP indica la confusión en las denominaciones de los cultivares tradicionales durante la propagación de los mismos.

Para los 53 genotipos triploides no fue posible identificar la estructura genética, puesto que todas las muestras presentaron un $qI < 80\%$, tanto con 13 SSRs como con 19 SSRs, lo que indica la consistencia de los resultados.

La combinación de la información aportada por el coeficiente de Jaccard con los obtenidos por STRUCTURE (Figura 37), permitió relacionar los individuos triploides con las poblaciones reconstruidas de los individuos diploides, como por ejemplo ‘Hosui’, un cultivar asiático triploide que se clasifica con los cultivares asiáticos diploides ‘Shinseiki’ y ‘Nijisseiki’.

Los cultivares ingleses, ‘Williams’ del siglo XVIII y ‘Conference’ del siglo XIX, se agruparon con cultivares franceses como ‘Abbe Fetel’, ‘Dr. Jules Guyot’, ‘Doyenné du Comice’, ‘General Leclerc’, y ‘Passe Crassane’, todos descritos entre 1849 y 1876, y con otras de Galicia en la RPP1, lo que indica el origen comercial de este grupo. Dentro de este grupo, el cultivar más importante por su relevancia en la producción mundial, así como del que se tienen referencias más antiguas es ‘Williams’ y, por tanto, el cultivar más probable del origen de la RPP1. Sin embargo, el nivel de similitud entre algunas de ellas ha

superado el 50% (Figura 37), lo que parece indicar que, además de tener un origen común, la similitud genética entre algunos de estos cultivares es importante, como entre ‘Williams’ y ‘CIAM CO107’ (SJ 0,86), ‘Williams’ y ‘CIAM CO9’ (SJ 0,56), ‘Doyenné du Comice’ y ‘CIAM CO89’ (SJ 0,50), ‘Tosca Mediana’ y ‘Precoz Morettini’ (SJ 0,51). En varios casos, el nivel de similitud es inferior al 30%, indicando una mayor diferenciación genética. La diferenciación entre especies se ha encontrado a partir del 9%, mientras que la similitud entre la RPP1 y la RPP2 (todos genotipos de peral europeo) ha sido del 17%. Se han encontrado genotipos relacionados por hibridación a partir de una similitud del 43% y a partir del 68% todos los individuos estuvieron relacionados por hibridación (Figuras 33 y 37).

‘Portuguesa’ y peras
asiáticas

Pyrus communis y
genotipos del CIAM

P. salicifolia
(Péndula),
‘Castell’ y
genotipos del
CIAM

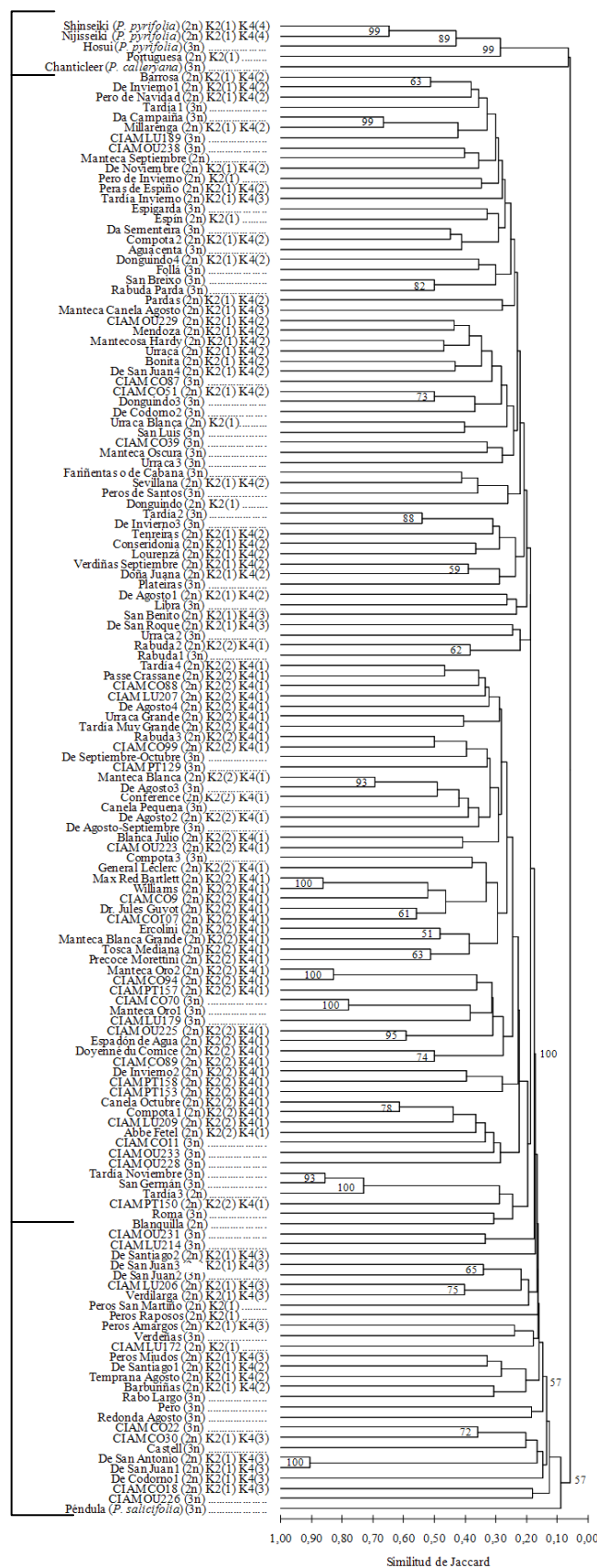


Figura 37. Dendrograma de similitud genética del coeficiente de Jaccard para 147 genotipos de peral con 19 SSRs. Las poblaciones reconstruidas (RPP1 a RPP4) se han indicado (para los genotipos diploides) en paréntesis para K=2 y K=4 obtenidos a partir del análisis de STRUCTURE con 13 SSRs.

Como demuestran el análisis de estructura y el coeficiente de Jaccard, se ha encontrado una estrecha relación entre cultivares de *P. communis* y cultivares recogidos en el CIAM. Esto podría indicar que algunas de las variedades que figuran en el CIAM fueron obtenidas a partir de cultivares comerciales, con la contribución de los genotipos locales, incluyendo a los individuos silvestres. Por otra parte, la agrupación de las variedades comerciales puede sugerir que las principales variedades derivan de un origen común, con una base genética estrecha, como señalaron Hokanson et al. (1998) y Dos Santos et al. (2011). Miranda et al. (2010) sugieren que los cultivares de *P. communis* podrían tener un origen genético más reducido de lo esperado. Sanzol y Herrero (2002) sugirieron que los nuevos cultivares tienen una relación de parentesco directo o indirecto con los cultivares importantes, por ejemplo, ‘Williams’. Estos autores identificaron alelos en común con ‘Williams’ en la variedad española ‘Agua de Aranjuez’ (‘Blanquilla’) y ‘Coscia’ (‘Ercolini’) y, según Tassinari et al. (2001), estos alelos también son compartidos por el cultivar ‘Doyenné du Comice’. En nuestro estudio, todos estos cultivares se agruparon en la RPP1. El cultivar ‘Williams’ ha compartido al menos un alelo en 13, 9, y 7 loci de 20 con ‘Doyenné du Comice’, ‘Ercolini’ y ‘Blanquilla’, respectivamente. ‘Blanquilla’ comparte alelos con ‘Ercolini’ en 18 de 20 loci, ‘Doyenné du Comice’ y ‘Ercolini’ comparten alelos en 15 de 20 loci, y estos tres cultivares juntos comparten alelos en 5 loci de los 20 estudiados.

‘General Leclerc’ se describe como originaria de Francia en 1950 (Tabla 5) a partir de ‘Decana del Comicio’ o ‘Doyenné du Comice’ (Brooks y Olmo, 1997), otra variedad francesa descrita en 1849, ambas en la RPP1. En nuestros resultados, ambos cultivares solo compartieron alelos en 14 de los 19 SSRs, lo que indica que el origen del ‘General Leclerc’ debe ser más complejo de lo sugerido. Además, ‘Williams’ presentó alelos compartidos en más SSRs (16) con ‘General Leclerc’. Por último, ‘Max Red Bartlett’ y ‘Williams’, y ‘Ercolini’ y ‘Precoce Morettini’ compartieron alelos en cada uno de los 20 loci evaluados, mostrando una estrecha relación entre ellos (Figura 38, Tabla 26) y, seguramente, pudieron tener ancestros comunes con el cultivar más antiguo entre ellos, ‘Williams’. De hecho, la relación de parentesco entre ‘Precoce Morettini’ y ‘Williams’ ha sido descrita en Italia en 1956 (Brooks y Olmo, 1997), donde se indica su origen en el cruzamiento ‘Coscia’ × ‘Bartlett’ (sinónimo ‘Williams’).

El grupo Peros (RPP3) agrupó solo cultivares gallegos, lo que podría explicarse por un diferente origen genético relacionado con las especies silvestres como *P. cordata*, ampliamente difundida en esta región (Aedo y Aldasoro, 1998). El cultivar comercial ‘Castell’ (3n) fue agrupado en el dendrograma con los cultivares en la RPP3 (Figura 37). ‘Castell’, es un cultivar español de *P. communis* también conocido como ‘Castell de Verano’ (UNECE, 2010), y se agrupó con dos genotipos del CIAM con la denominación ‘San Juan’, aunque presentando un bajo nivel de similaridad (dendrograma en la Figura 37). ‘Castell’ fue la variedad comercial más diferenciada de *P. communis* en este estudio, lo que podría explicarse por la contribución de otras especies a la compleja diversidad de los individuos de la RPP3. Esta tercera RPP ha presentado siete alelos específicos en seis loci: CH01d03 (153), CH02b10 (147, 153), CH02c09 CH02c11 (233), CH03d12 (132), (251), y GD142 (170).

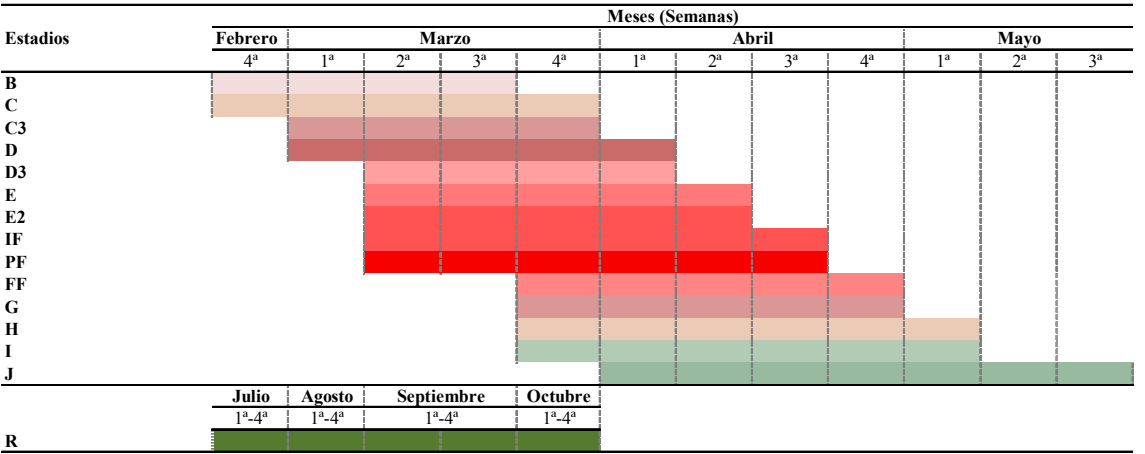
Los cultivares de Asia (*P. pyrifolia*) agrupados en la RPP4 presentaron también siete alelos específicos en seis loci (Tabla 19): CH01f07a (181), CH02c09 (255), CH03d12 (93), CH05c06 (83), CH-VF1 (158, 162) y EMPc11 (143). Además, otros cinco alelos solo se encontraron en ‘Portuguesa’ y cultivares asiáticos en cuatro loci: CH02d11 (99), CH03d12 (97), CH03g07 (250) y GD142 (140, 143). Un alelo del locus CH04e03 (188) se identificó solo en los cultivares ‘Portuguesa’ y ‘Chanticleer’ (*P. calleryana*). ‘Chanticleer’ es una variedad de pera coreana descrita en 1872, cuyo origen fueron unas muestras recogidas en China por misioneros franceses (Santamour y McArdle, 1983).

‘Péndula’ es un cultivar triploide (*P. salicifolia* Pall) que no se agrupó con otro cultivar (Figura 38). Este cultivar, cuyo origen se encuentra entre Turquía, Irán y Rusia (Fisher, 2009), presentó diez alelos específicos en ocho loci: CH01d08 (296, 305), CH02b10 (112), CH02c09 (233), CH02d11 (123), CH03d12 (95), CH03g07 (222), CH05c06 (114 y 117) y EMPc11 (123). Este cultivar compartió un único alelo con el cultivar ‘Manteca Canela Agosto’ [CH05a02b (125)].

La estructura genética encontrada en Galicia ha estado muy relacionada con la introgresión de cultivares comerciales, algunos de ellos de especies asiáticas, lo que ha contribuido a la elevada diversidad genética encontrada. La introgresión de especies asiáticas en las poblaciones locales ha sido demostrada también en las poblaciones de castaño gallegas (Pereira-Lorenzo et al., 2010), mientras que la introducción y utilización de cultivares comerciales que se han confundido con los locales ha sido comprobado en manzano (Pereira-Lorenzo et al., 2008) y en castaño (Pereira-Lorenzo et al., 2011).

4.2 Caracterización fenológica

El periodo medio de actividad vegetativa de la colección de perales del CIAM (128 genotipos) varió desde la última semana de febrero (hinchamiento de la yema, estadio C) hasta la tercera semana de mayo (engrosamiento de los frutos, estadio J) (Figura 38). La fecha de recolección (R, 111 genotipos) varió desde principios de julio hasta finales de octubre, en total cuatro meses.



B, C y C3, la yema empieza a hincharse; D y D3, aparición de los botones florales; E, los pétalos dejan ver los sépalos; E2, primera flor; F, primera flor abierta; F2, plena floración; G, caída de los primeros pétalos; H, caída de los últimos pétalos; I y J, engrosamiento de los frutos; y R, recolección del fruto.

Figura 38. Estadios fenológicos de los genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia).

Los estadios B, C y C3 corresponden a los momentos en que las yemas empiezan a hincharse (Figura 39) y variaron entre la 4ª semana de febrero y la cuarta semana de marzo. El estadio B, el mayor número de genotipos lo presentaron en la 1ª semana de marzo (77); el estadio C y C3, en la 2ª semana de marzo (78 y 64, respectivamente), produciéndose el máximo para C3 unos días más tarde que para el estadio C.

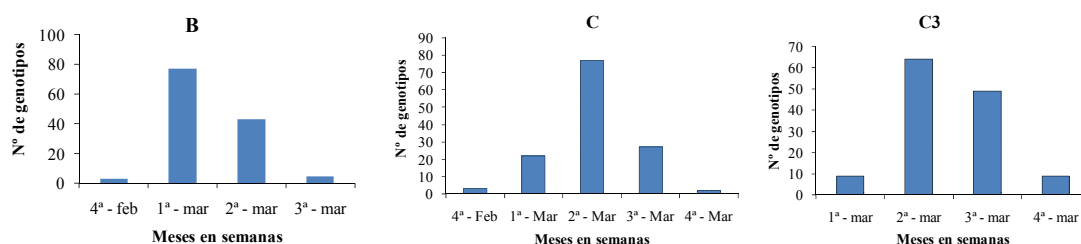


Figura 39. Distribución de los perales del CIAM (Xunta de Galicia) para los estadios fenológicos correspondientes al comienzo de la hinchazón de las yemas (B, C y C3).

Los estadios correspondientes a la aparición de los botones flores (D y D3) variaron entre la 1ª semana de marzo y la 1ª semana de abril. El periodo en el que se encontró un mayor número de genotipos en estos estadios fue en la 3ª semana de marzo (50) (Figura 40).

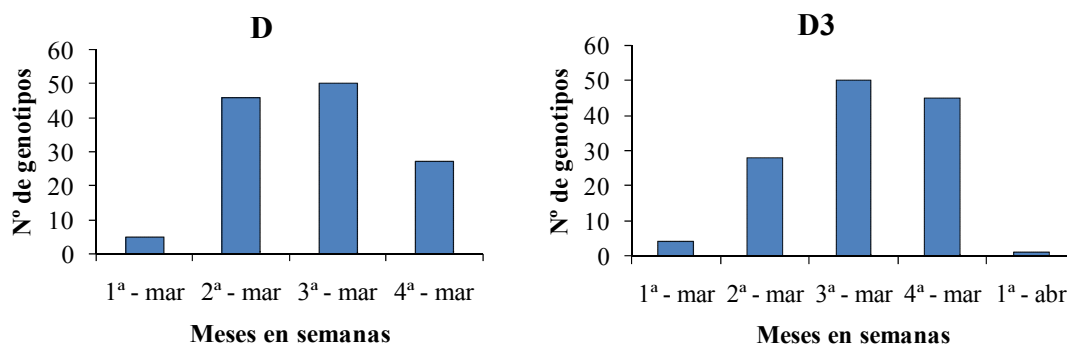


Figura 40. Estadios fenológicos correspondientes a la aparición de los botones florales (D y D3) en los genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia).

El estadio E, correspondiente al momento en que los pétalos dejan ver los sépalos (Figura 41), fue observado durante las tres últimas semanas de marzo y la primera semana de abril, siendo la 4ª semana de marzo la época en que un mayor número de genotipos (58) presentaron este estadio. En la 4ª semana de marzo también fueron observados 55 genotipos que presentaron las flores cerradas (E2).

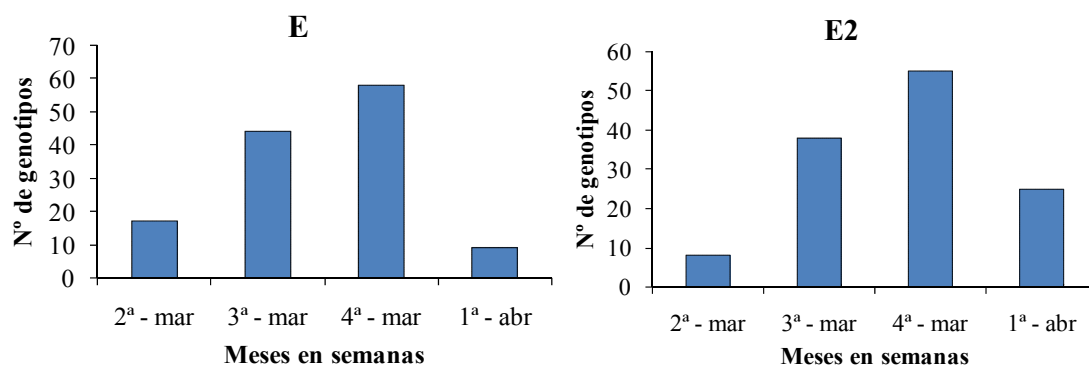


Figura 41. Caracterización fenológica de los estadios en que los pétalos dejan ver los sépalos (E) y la aparición de las primeras flores cerradas (E2) en la colección de genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia).

La floración varió entre la 2ª semana de marzo y la 4ª de abril (Figuras 42 y 43), aunque la plena floración (PF) se concentró entre la 2ª semana de marzo y la 3ª semana de abril (Figura 42). Los genotipos del CIAM fueron caracterizados como de floración Temprana, Mediana y Tardía a partir de los cuartiles determinados teniendo en cuenta las fechas de PF. En la 4ª semana de marzo se encontraron el mayor número de genotipos.

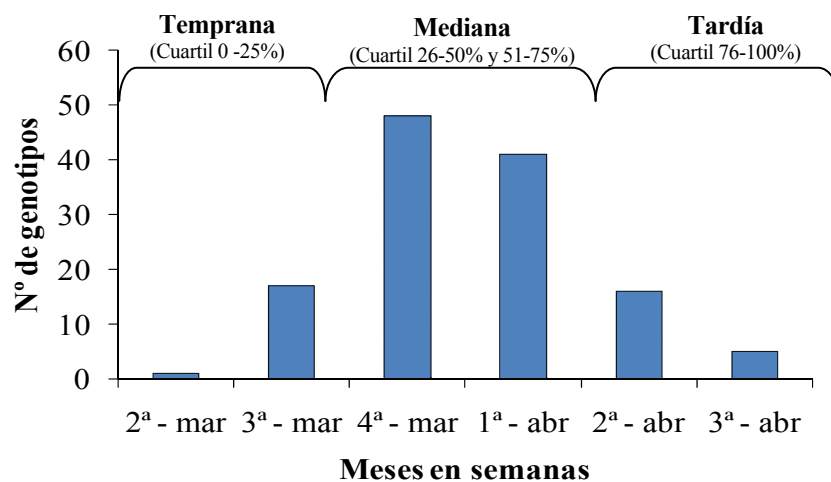


Figura 42. Época de plena floración de los genotipos de peral pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).

En la 4ª semana de marzo se encontraron el mayor número de genotipos para el inicio de la floración (IF, 59), y para el final de la floración (FF) en la primera semana de abril (45) (Figura 43).

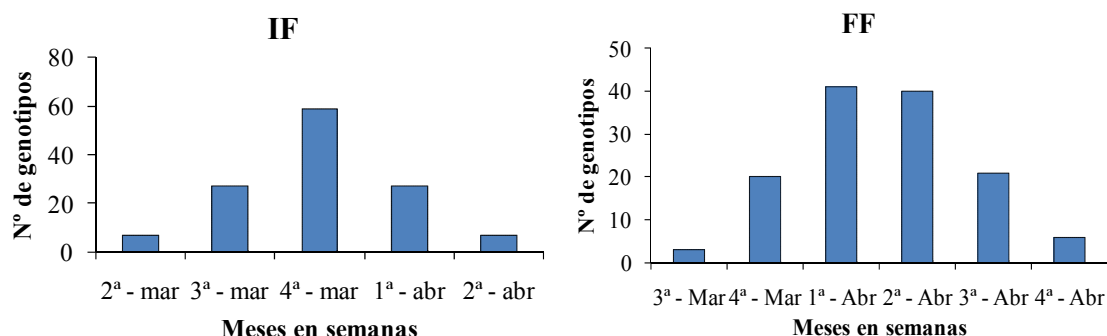


Figura 43. Caracterización del inicio (IF) y final (FF) de la floración para los genotipos de peral pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).

La época de caída de los pétalos varió entre la 3ª semana de marzo y la 1ª semana de mayo (Figura 44). El mayor número de genotipos en el estadio de caída de los primeros pétalos G (45) se produjo en la 1ª semana de abril, mientras que para el estadio de caída de los últimos pétalos H fue en la 3ª semana de abril (39).

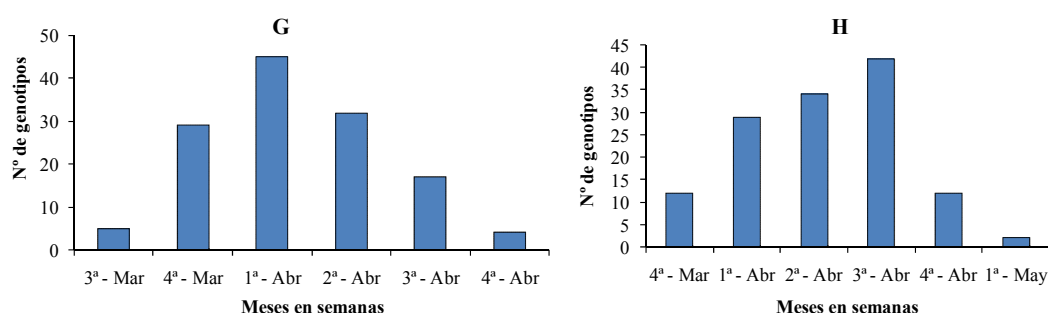


Figura 44. Caracterización de los estadios fenológicos de la caída de los primeros (G) y últimos (H) pétalos en la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).

Para los estadios correspondientes al engrosamiento del fruto (Figura 45), el mayor número de genotipos se presentó entre la 2ª y 3ª semana de abril (41 genotipos en el estadio I) y entre la 4ª semana de abril y la 1ª semana de mayo (41 genotipos en el estadio J).

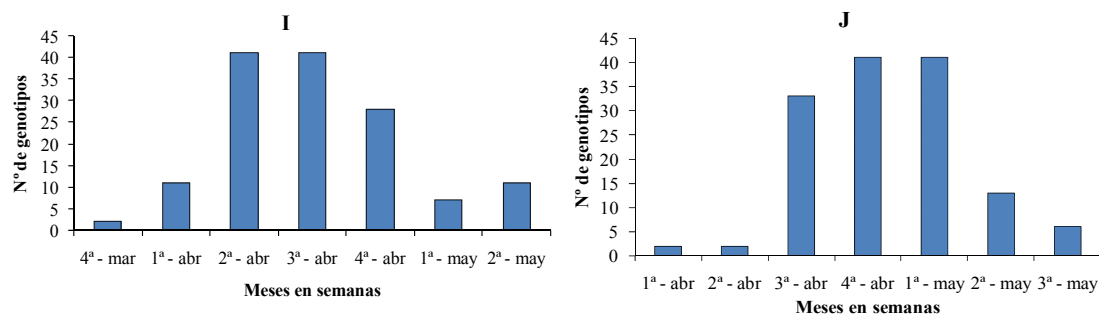


Figura 45. Caracterización de los estadios fenológicos del engrosamiento de los frutos (I, J) en la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).

La fecha en la que se recolectaron (estadio R) un mayor número de genotipos (22) fue en la 4^a semana de agosto (Figura 46), seguida por la 1^a (15), 4^a (14) semana de septiembre, y 3^a semana de agosto (14). La precocidad en la época de recolección de un número importante de genotipos es un aspecto interesante para proporcionar fruta de temporada, sin necesidad de conservación (Masseron y Trillot, 1991). Según los cuartiles, en la colección del CIAM tendríamos un grupo de genotipos tempranos que se recolectaron antes de la 3^a semana de agosto y un grupo de genotipos tardíos que se recolectaron después de la 4^a semana de septiembre.

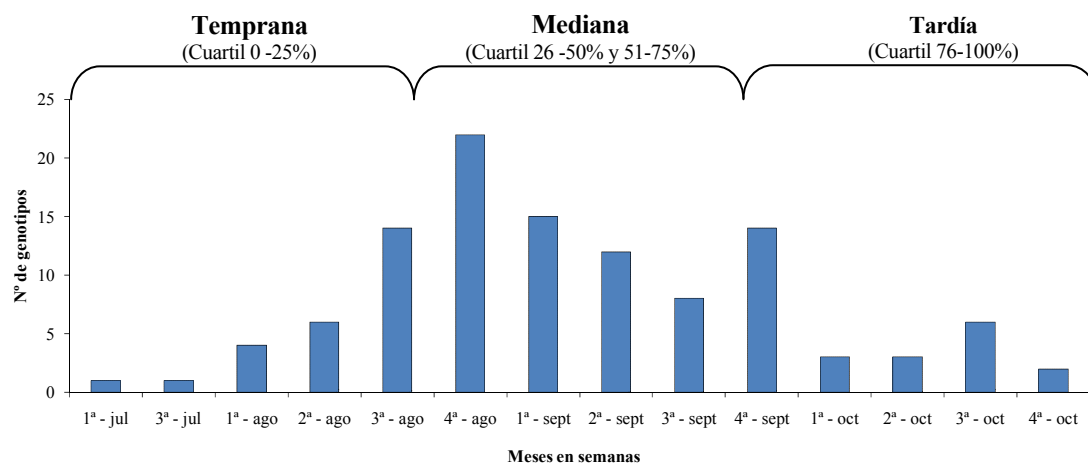


Figura 46. Época de recolección de los frutos de la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).

Los estadios fenológicos no presentaron correlaciones con las poblaciones reconstruidas (RPPs), la ploidía y las coordenadas geográficas (Tabla 35). La recolección (R) tampoco presentó correlación significativa con respecto a los otros estadios

fenológicos excepto con el estadio de inicio del hinchazón de yemas (B), aunque con un valor bajo. La recolección ha sido independiente del momento de la floración.

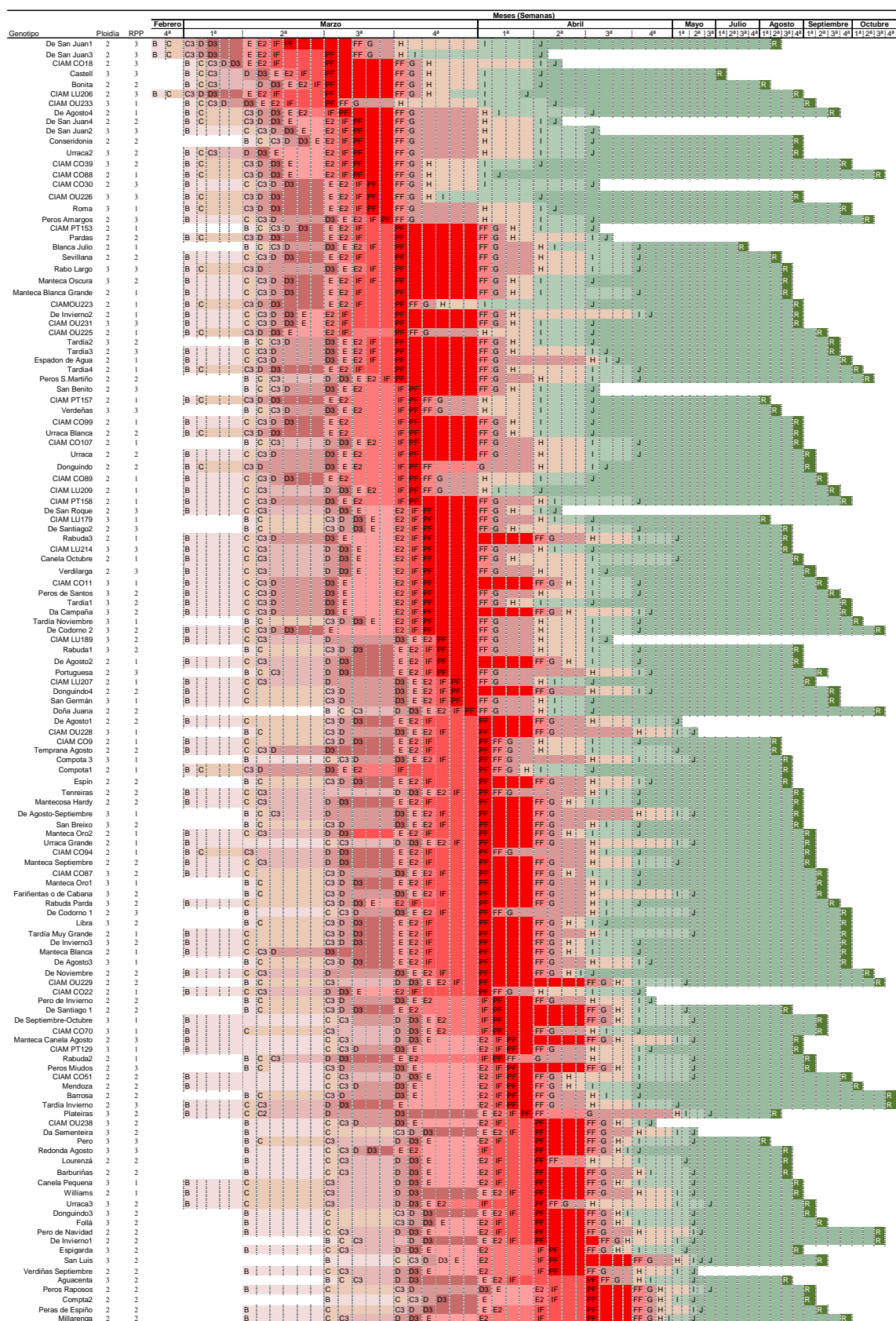
Tabla 35. Correlaciones de Pearson entre los estadios fenológicos con las poblaciones reconstruidas (RPPs), ploidía y las coordenadas geográficas para la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables	Ploidía	RPPs	Latitud	Longitud	B	C	C3	D	D3	E
Ploidía	1,00	0,10 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,06 ^{ns}
RPP	0,10 ^{ns}	1,00	-0,12 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Latitud	0,03 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	1,00	-0,10 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,22*	0,25**	0,23*	0,22*	0,24*
Longitud	-0,09 ^{ns}	-0,1 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	1,00	0,02 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,09 ^{ns}
B	0,05 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,02 ^{ns}	1,00	0,83***	0,77***	0,67***	0,70***	0,63***
C	0,10 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,22*	0,05 ^{ns}	0,83***	1,00	0,92***	0,83***	0,86***	0,81***
C3	0,11 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,25**	0,05 ^{ns}	0,77***	0,92***	1,00	0,89***	0,91***	0,88***
D	0,03 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,23*	-0,03 ^{ns}	0,67***	0,83***	0,89***	1,00	0,90***	0,85***
D3	0,06 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,22*	0,05 ^{ns}	0,70***	0,86***	0,91***	0,90***	1,00	0,96***
E	0,06 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,24*	0,09 ^{ns}	0,63***	0,81***	0,88***	0,85***	0,96***	1,00
E2	0,02 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,20*	0,13 ^{ns}	0,58***	0,72***	0,79***	0,76***	0,86***	0,88***
IF	0,08 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,23*	0,12 ^{ns}	0,64***	0,81***	0,88***	0,82***	0,92***	0,95***
PF	0,05 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,20*	0,12 ^{ns}	0,61***	0,76***	0,84***	0,79***	0,88***	0,92***
FF	0,02 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,63***	0,78***	0,84***	0,80***	0,88***	0,91***
G	0,02 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,19*	0,13 ^{ns}	0,63***	0,77***	0,85***	0,80***	0,88***	0,91***
H	0,01 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,21*	0,11 ^{ns}	0,63***	0,78***	0,82***	0,80***	0,84***	0,87***
I	-0,04 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,53***	0,7***	0,73***	0,67***	0,72***	0,75***
J	0,01 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,19*	0,11 ^{ns}	0,52***	0,72***	0,74***	0,71***	0,77***	0,80***
R	-0,09 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,22*	0,16 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,12 ^{ns}
Variables	E2	IF	PF	FF	G	H	I	J	R	
Ploidía	0,02 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	
RPPs	0,06 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,00 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	
Latitud	0,20*	0,23*	0,20*	0,17 ^{ns}	0,19*	0,21*	0,18 ^{ns}	0,19*	0,08 ^{ns}	
Longitud	0,13 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,12 ^{ns}	
B	0,58***	0,64***	0,61***	0,63***	0,63***	0,63***	0,53***	0,52***	0,22*	
C	0,72***	0,81***	0,76***	0,78***	0,77***	0,78***	0,7***	0,72***	0,16 ^{ns}	
C3	0,79***	0,88***	0,84***	0,84***	0,85***	0,82***	0,73***	0,74***	0,14 ^{ns}	
D	0,76***	0,82***	0,79***	0,80***	0,80***	0,80***	0,67***	0,71***	0,17 ^{ns}	
D3	0,86***	0,92***	0,88***	0,88***	0,88***	0,84***	0,72***	0,77***	0,15 ^{ns}	
E	0,88***	0,95***	0,92***	0,91***	0,91***	0,87***	0,75***	0,80***	0,12 ^{ns}	
E2	1,00	0,89***	0,84***	0,85***	0,85***	0,80***	0,70***	0,75***	0,09 ^{ns}	
IF	0,89***	1,00	0,96***	0,94***	0,95***	0,88***	0,78***	0,82***	0,13 ^{ns}	
PF	0,84***	0,96***	1,00	0,93***	0,94***	0,88***	0,76***	0,83***	0,1 ^{ns}	
FF	0,85***	0,94***	0,93***	1,00	0,99***	0,90***	0,79***	0,84***	0,13 ^{ns}	
G	0,85***	0,95***	0,94***	0,99***	1,00	0,91***	0,80***	0,84***	0,13 ^{ns}	
H	0,80***	0,88***	0,88***	0,90***	0,91***	1,00	0,86***	0,89***	0,08 ^{ns}	
I	0,70***	0,78***	0,76***	0,79***	0,80***	0,86***	1,00	0,87***	0,06 ^{ns}	
J	0,75***	0,82***	0,83***	0,84***	0,84***	0,89***	0,87***	1,00	0,07 ^{ns}	
R	0,09 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,07 ^{ns}	1,00	

*P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001, ^{ns} no significativo. Estadios fenológicos: B, C y C3, la yema empieza a hincharse; D y D3, aparición de los botones florales; E, los pétalos dejan ver los sépalos; E2, primera flor; F, primera flor abierta; F2, plena floración; G, caída de los primeros pétalos; H, caída de los últimos pétalos; I y J, engrosamiento de los frutos; R, recolección de los frutos.

La latitud presentó correlaciones significativas pero bajas con la mayor parte de los estadios fenológicos: C (0,22, P<0,05), C3 (0,25, P<0,01), D (0,23, P<0,05), D3 (0,22, P<0,05), E (0,24, P<0,05), E2 (0,20, P<0,05), IF (0,23, P<0,05), PF (0,20, P<0,05), G (0,19, P<0,05), H (0,21, P<0,05), y J (0,19, P<0,05).

Cuando los cultivares se han ordenado por la fecha de plena floración (PF, Figura 47) y por la fecha de recolección (R, Figura 48), se observa la falta de correlación indicada entre ambos estadios fenológicos, de tal manera que se podrían seleccionar cultivares con fecha de floración tardía y recolección temprana para su cultivo en zonas frías o de montaña.



Estadios fenológicos: B, C y C3, la yema empieza a hincharse; D y D3, aparición de los botones florales; E, los pétalos dejan ver los sépalos; E2, primera flor; IF, 5% de flores abierta; PF, más de 50% de flores abierta; FF, 95% de flores abierta; G, caída de los primeros pétalos; H, caída de los últimos pétalos; I y J, engrosamiento de los frutos; R, recolección de los frutos.

Figura 47. Estadios fenológicos de los genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia) ordenados por fecha de plena floración.

En julio solamente se recolectaron dos cultivares, en agosto 46, en septiembre 49, y en octubre 14. Por tanto, el mes de septiembre fue el más importante para los genotipos evaluados en cuanto a la fecha de recolección (Figura 48).

El genotipo ‘Blanca Julio’ fue recogido en julio (4ª semana). De los genotipos que tienen en el nombre agosto (siete), dos de ellos (‘De Agosto3’ y ‘De Agosto4’) fueron recogidos en septiembre (2ª y 1ª semana). Los genotipos que tienen en el nombre septiembre (‘De Septiembre-Octubre’ y ‘Manteca-Septiembre’) fueron recogidos en este mes (2ª y 1ª semana). Un genotipo en cuya denominación aparece el mes de octubre (‘Canela Octubre’) fue recogido en agosto (4ª semana). Dos genotipos que incluyen la denominación noviembre (‘Tardía Noviembre’ y ‘De Noviembre’) fueron recogidos en octubre (1ª y 2ª semana). El ‘Pero de Navidad’ fue recogido en octubre (3ª semana). Los cuatro genotipos con la denominación invierno (‘De Invierno1’, ‘De Invierno2’, ‘De Invierno3’, y ‘Tardía Invierno’) fueron recogidos en verano u otoño (3ª semana de octubre, 3ª semana de agosto, 4ª semana de septiembre, y 4ª semana de octubre). El genotipo en cuya denominación aparece la palabra temprana (‘Temprana de Agosto’) fue clasificada como de recolección mediana (2ª semana de agosto), además, de los seis genotipos con denominación tardía, dos de ellos (‘Tardía2’ y ‘Tardía3’) también fueron clasificados como de recolección mediana (4ª semana de septiembre) según nuestro sistema de clasificación.

Se ha comprobado que el cultivar de recolección más temprana ha sido ‘Castell’ (la primera semana de julio, clasificación temprana). El cultivar ‘Castell’ estuvo agrupado en los dendrogramas con de ‘San Juan1’ (la segunda semana de agosto, clasificación mediana). Se observó que para la plena floración, los cuatro genotipos del CIAM con el nombre ‘San Juan’ y el cultivar ‘Castell’ fueron clasificados como de floración temprana, por presentar la plena floración entre la segunda y la tercera semana de marzo. Además, los genotipos ‘CIAM CO22’ y ‘CIAM CO30’ también estuvieron relacionados genéticamente a ‘Castell’, y presentaron la plena floración como mediana (primera semana de abril) y temprana (tercera semana de marzo), respectivamente (Figuras 33, 37, 47 y 48).

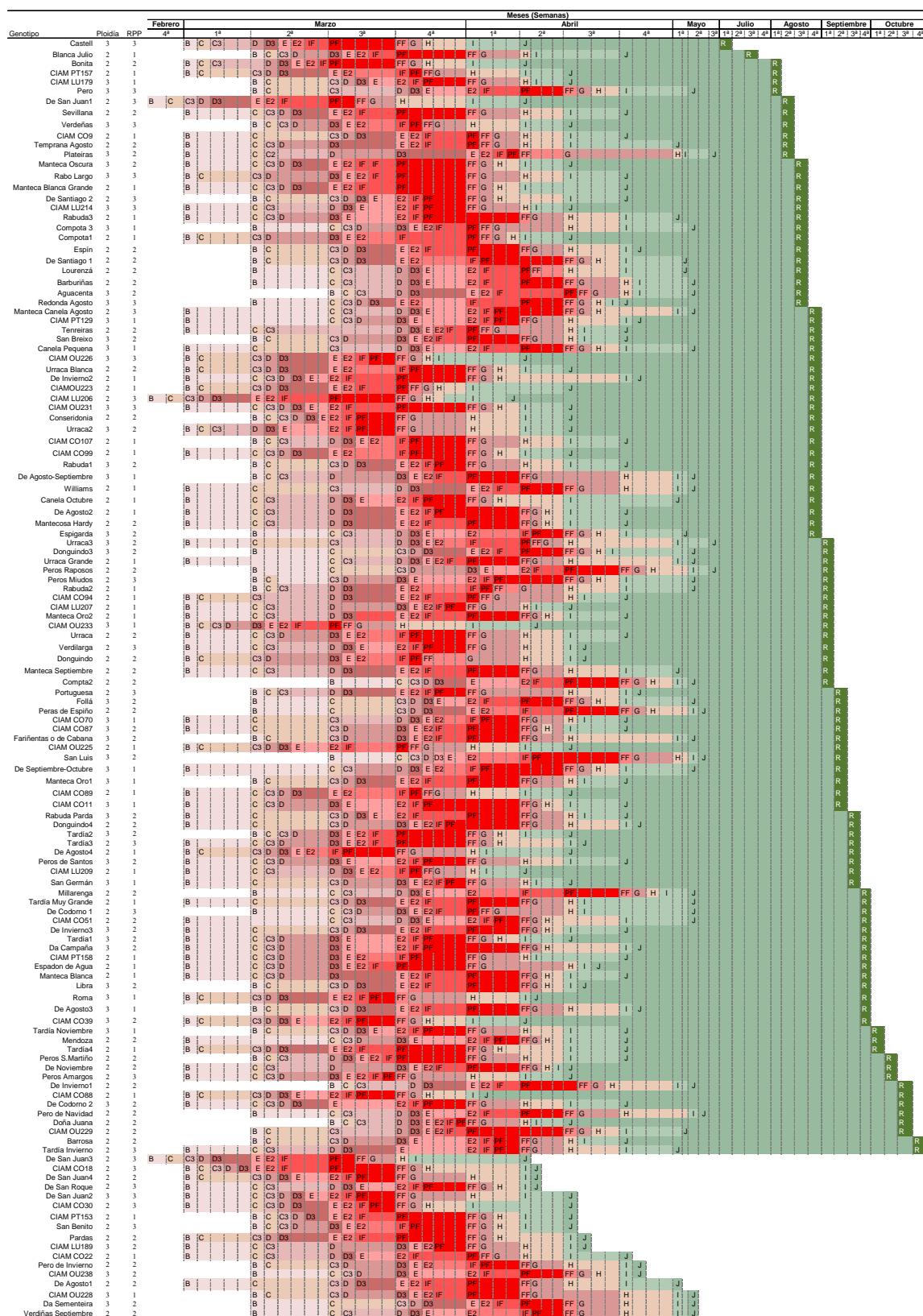


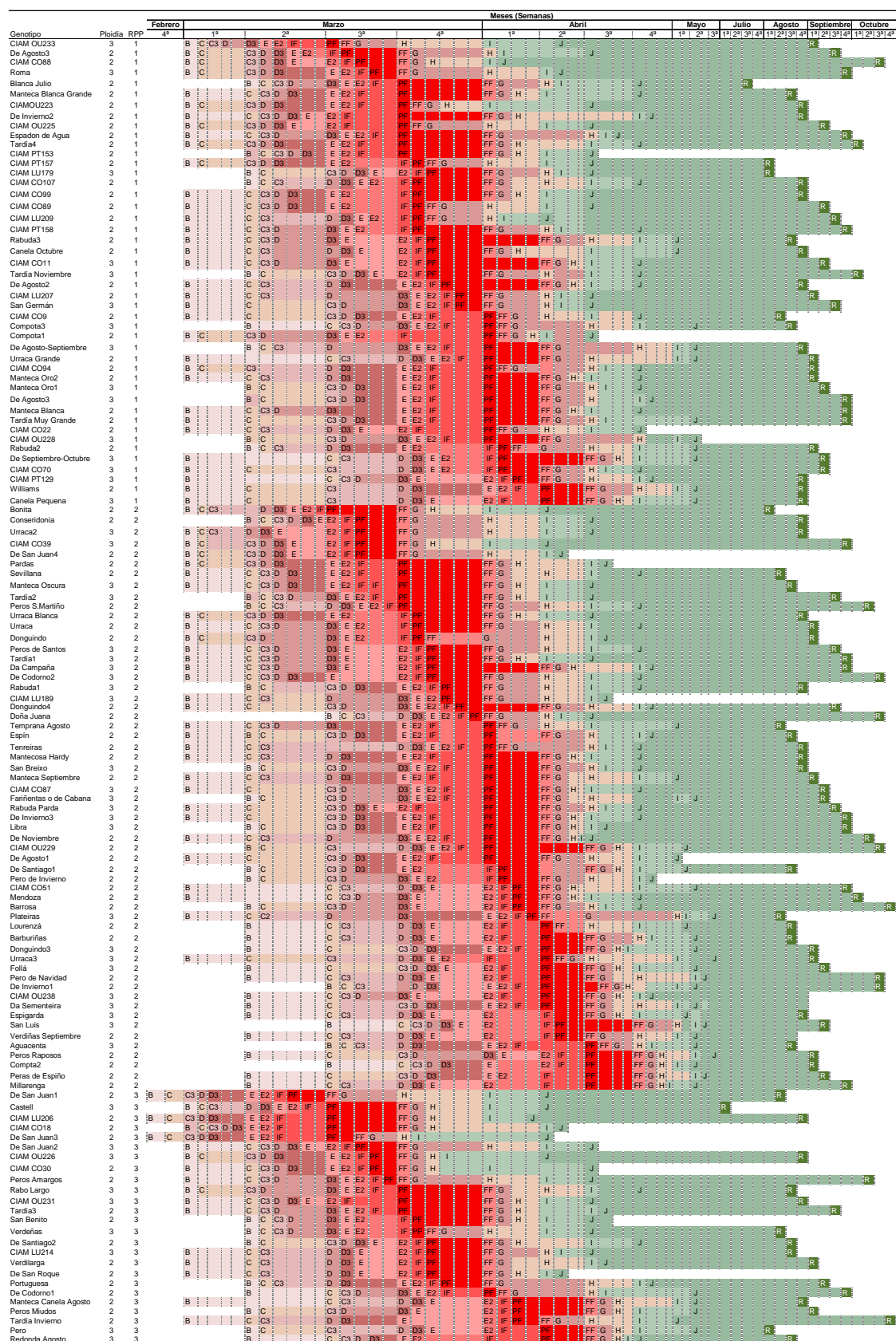
Figura 48. Estadios fenológicos de los genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia) ordenados por fecha de recolección (R).

Todos los estadios fenológicos menos la recolección mostraron diferencias significativas entre las poblaciones reconstruidas (RPPs), siendo la RPP3 la más temprana y la RPP2 la más tardía (Tabla 36, Figura 49). La floración fue significativamente diferente entre RPPs (Tabla 36), de tal manera que la RPP3 ('Peros') fue la que floreció primero, seguida de la RPP1 ('Williams') y la RPP2 ('Mantecosa Hardy').

Tabla 36. Valores medios para los estadios fenológicos de las poblaciones reconstruidas (RPPs) para los genotipos de peral del CIAM (Xunta de Galicia).

Estadios fenológicos	Poblaciones reconstruidas		
	RPP1	RPP2	RPP3
B***	7-3a	9-3b	5-3a
C***	10-3a	13-3b	9-3a
C3**	13-3a	16-3b	12-3a
D***	15-3a	18-3b	14-3a
D3**	18-3a	21-3b	18-3a
E***	21-3a	24-3b	18-3a
E2***	23-3a	28-3b	21-3a
IF***	25-3a	29-3b	22-3a
PF***	30-3b	2-4c	26-3a
FF***	6-4a	11-4b	3-4a
G***	4-4b	9-4c	1-4a
H***	12-4b	15-4b	7-4a
I***	19-4b	23-4b	14-4a
J**	26-4b	29-4b	21-4a
R ^{ns}	7-9a	11-9a	30-8a

*P < 0,05, **P < 0,01, *** P < 0,001, ^{ns}no significativo. Para cada columna, las medias con letras diferentes son significativamente distintas (P = 0,05) según el test de rangos múltiple de Student–Newman–Keuls (SNK).



4.3 Características morfológicas del fruto

4.3.1 Caracteres fenotípicos cuantitativos

Todas las características cuantitativas evaluadas han presentado variación para los genotipos diferenciados por SSRs (Tabla 37). En total fueron evaluados 115 genotipos, de los cuales 45 (39%) fueron triploides y 70 (61%) diploides. La variación entre accesiones dentro del genotipo también ha sido significativa, lo mismo que para el año y la interacción genotipo por año. Estos análisis se repitieron para los 107 genotipos de los que se disponía de dos o más años de datos de las características de los frutos y los resultados fueron similares.

Tabla 37. Valores de F en los análisis de varianza de los datos de morfología de los frutos de la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).

Variabes	Genotipo	Accesión (Genotipo)	Año	Genotipo x Año
<i>Para 115 genotipos</i>				
Peso (g)	56,28***	5,69***	24,79***	6,63***
Longitud [L (mm)]	87,77***	8,82***	25,98***	7,21***
Diámetro máximo [DM (mm)]	67,08***	7,38***	52,95***	6,66***
Rella (Relación entre L y DM)	61,58***	4,98***	17,37***	8,78***
Distancia al DM [DDM (mm)]	32,17***	7,19***	29,46***	6,43***
<i>Para 107 genotipos con 2 o más años de evaluación</i>				
Peso (g)	59,62***	5,74***	24,55***	6,57***
L (mm)	92,05***	8,91***	25,76***	7,15***
DM (mm)	71,04***	7,38***	52,65***	6,62***
Rella (L/DM)	64,15***	4,91***	17,30***	8,75***
DDM (mm)	33,96***	7,17***	29,30***	6,39***

***P<0,001.

El peso del fruto varió entre 13,33 g ('Peros Miudos') y 244,52 g ('Manteca Oro1'). La longitud (L) ha variado entre 27,92 mm ('Peros San Martiño') y 97,75 mm ('Manteca Oro1'). El diámetro máximo (DM) varió entre 29,02 mm ('Peros Miudos') y 78,31 mm ('Libra'). La Rella (relación entre longitud y el diámetro máximo) varió entre 0,79 ('Portuguesa') y 1,60 ('CIAM LU206'); y la distancia al diámetro máximo (DDM) entre 13,30 mm ('Peros San Martiño') y 38,66 mm ('Manteca Oro1') (Tabla 38). A partir de la información resultante de la variabilidad de las características del fruto, se han obtenido los cuartiles, que muestran que en la colección del CIAM, un 25% de los genotipos producen frutos sin tamaño comercial, por debajo de los 56 g y menos de 45 mm de longitud y diámetro (Tabla 39).

Tabla 38. Variabilidad de los datos cuantitativos para las características de los frutos de perales del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables	Genotipos (No.)	Mínimo	Máximo	Media	Varianza	Desviación Típica
Peso (g)	115	13,33	244,52	89,64	180,31	45,09
Longitud [L (mm)]	115	27,92	97,75	56,57	180,31	13,43
Diámetro máximo [DM (mm)]	115	29,02	78,31	53,06	89,54	9,46
Rella (Relación entre L y DM)	115	0,79	1,60	1,07	0,03	0,16
Distancia al DM [DDM (mm)]	115	13,30	38,66	27,68	24,58	4,96

Tabla 39. Cuartiles para las características de los frutos de la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables	Cuartiles			
	0-25%	26-50%	51-75%	76-100%
Peso (g)	≤56	57-82	83-114	≥115
Longitud [L (mm)]	≤45	46-55	56-62	≥63
Diámetro máximo [DM (mm)]	≤45	46-51	52-59	≥60
Rella (Relación entre L y DM)	≤0,94	0,95-0,99	1,00-1,17	≥1,18
Distancia al DM [DDM(mm)]	≤24	25 -27	28-30	≥31

Dentro de las variedades comerciales de referencia, ‘Castell’ (27,93 g; L, 40,20 mm; DM, 37,67 mm) se clasificó en el cuartil 0-25%, ‘Williams’ (109,01g; L, 64,06 mm; DM, 57,23 mm) y ‘Blanquilla’ (93,40 g; L, 54,32 mm; DM, 54,73 mm) en el cuartil entre 56-75% para los caracteres de peso, longitud y diámetro máximo respectivamente. Cultivares como ‘Roma’ (121,27g), y ‘Mantecosa Hardy’ (122,27g) se clasificaron para el peso en el cuartil 76-100%.

Las poblaciones reconstruidas (RPPs) mostraron diferencias significativas para las características cuantitativas del fruto, así como el genotipo dentro de la RPP (Tabla 40). Entre las RPPs, ‘Williams’ fue la que obtuvo las mayores medias para todas las características y ‘Peros’ las menores. ‘Mantecosa Hardy’ presentó, de manera general, una posición intermedia (Tabla 41).

Tabla 40. Valores de F de los caracteres cuantitativos de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia) teniendo en cuenta las RPPs (replantaciones reconstruidas) determinadas por el programa STRUCTURE.

Variables	RPPs	Genotipo (RPPs)
Peso (g)	142,67***	46,93***
Longitud [L (mm)]	387,36***	59,88***
Diámetro máximo [DM (mm)]	193,87***	50,70***
Rella (Relación entre L y DM)	194,42***	46,60***
Distancia al DM [DDM (mm)]	128,15***	23,65***

*P < 0,05, **P < 0,01, *** P < 0,001, ^{ns} no significativo.

Tabla 41. Valores medios por población reconstruida (RPP) para las características de los frutos de los perales del CIAM (Xunta de Galicia).

RPPs	Peso (g)	Longitud [L (mm)]	Diámetro Máximo [DM (mm)]	Rella (Relación entre L y DM)	Distancia al DM [DDM (mm)]
1, 'Williams'	109,95a	66,24a	56,15a	1,18a	30,78a
2, 'Mantecosa Hardy'	80,45ab	52,79a	50,27ab	1,05a	26,70b
3, 'Peros'	62,38b	53,06b	47,16b	1,12a	25,46b

Para cada columna, las medias con letras diferentes son significativamente distintas (P = 0,05) según el test de rangos múltiple de Student–Newman–Keuls.

Como se ha señalado anteriormente, en este estudio se distinguieron un 39% de genotipos triploides mediante SSRs en la colección del CIAM, un porcentaje mayor que en otros estudios de manzano (Einset y Lamb, 1951; Einset 1948, 1952). En nuestro estudio, teniendo en cuenta solo las RPP1 y RPP2 (*P. communis*), los triploides produjeron frutos significativamente más pesados (108,4 g vs 83,8 g; P < 0,05) y anchos (DM, 55,6 mm vs 51,1 mm; P < 0,05) que los diploides (Tabla 42). Eso significa que los frutos de los individuos triploides fueron un 17% más pesados que los de los diploides, un incremento similar al obtenido en manzanos, en los que se calculó un incremento del 15% (Ramos-Cabrer et al., 2007). La elevada frecuencia de triploides, por tanto, puede relacionarse con la selección por su mayor tamaño de frutos (Alston y Watkins, 1977; Brown, 1992).

Tabla 42. Valores de F de los caracteres de los frutos de los perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia) teniendo en cuenta la ploidía.

Variables	RPP1, 2 y 3	RPP1 y 2
Peso (g)	3,81*	5,66*
Longitud [L (mm)]	0,67 ^{ns}	2,26 ^{ns}
Diámetro máximo [DM (mm)]	3,43 ^{ns}	5,15*
Rella (Relación entre L y DM)	0,96 ^{ns}	0,35 ^{ns}
Distancia al DM [DDM (mm)]	1,14 ^{ns}	3,22 ^{ns}

*P < 0,05, ^{ns} no significativo.

En el grupo donde está la variedad ‘Williams’ están concentradas las variedades comerciales como ‘Abbe Fetel’, ‘Blanquilla’, ‘Doyenné du Comice’, ‘Conference’, ‘Doctor Jules Guyot’, ‘General Leclerc’, ‘Passe Crassane’, ‘Max Red Bartlett’ que son peras que se destacan por poseer frutos grandes, y anchos, mientras que para el grupo de ‘Mantecosa Hardy’ presentan un tamaño mediano.

Las correlaciones entre las características cuantitativas de los frutos fueron elevadas y significativamente positivas. Todas las características cuantitativas del fruto se correlacionaron negativamente con las RPPs, debido a que la RPP3 presentó los frutos más pequeños (Tabla 41). La correlación positiva más elevada se encontró entre el Peso y el diámetro máximo (DM = 0,95, $P < 0,001$), y la máxima correlación negativa fue entre la RPP y la Longitud (-0,44, $P < 0,001$) (Tabla 43).

Tabla 43. Correlaciones de Pearson para las características externas de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables	Ploidía	RPPs	Latitud	Longitud	Recolección
Ploidía	1,00	0,10 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,09 ^{ns}
RPPs	0,10 ^{ns}	1,00	-0,12 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,09 ^{ns}
Latitud	0,03 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	1,00	-0,10 ^{ns}	0,08 ^{ns}
Longitud	-0,09 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	1,00	0,12 ^{ns}
Recolección	-0,09 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,12 ^{ns}	1,00
Peso (g)	0,18 ^{ns}	-0,36***	0,10 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,20*
Longitud [L (mm)]	0,08 ^{ns}	-0,44***	0,13 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,07 ^{ns}
Diámetro máximo [DM (mm)]	0,17 ^{ns}	-0,37***	0,11 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,25**
Rella (Relación entre L y DM)	-0,09 ^{ns}	-0,25**	0,09 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,18 ^{ns}
Distancia al DM [DDM (mm)]	0,11 ^{ns}	-0,42***	0,10 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,09 ^{ns}
Variables	Peso (g)	Longitud (mm)	DM (mm)	Rella	DDM (mm)
Ploidía	0,18 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,11 ^{ns}
RPPs	-0,36***	-0,44***	-0,37***	-0,25**	-0,42***
Latitud	0,10 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,10 ^{ns}
Longitud	0,00 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,04 ^{ns}
Recolección	0,20*	0,07 ^{ns}	0,25**	-0,18 ^{ns}	0,09 ^{ns}
Peso (g)	1,00	0,83***	0,95***	0,20*	0,90***
Longitud [L (mm)]	0,83***	1,00	0,76***	0,69***	0,84***
Diámetro máximo [DM (mm)]	0,95***	0,76***	1,00	0,07 ^{ns}	0,91***
Rella (Relación entre L y DM)	0,20*	0,69***	0,07 ^{ns}	1,00	0,29**
Distancia al DM [DDM (mm)]	0,90***	0,84***	0,91***	0,29**	1,00

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, ^{ns} no significativo.

4.3.2 Caracteres fenotípicos cualitativos

La posición del diámetro máximo más frecuente, en relación a la forma del fruto, fue en el medio del mismo (43%), siendo la forma más habitual de los laterales del fruto la convexa (69%), y el código de forma “1,6” (36%) según IBPGR (1983) (Tabla 44).

Tabla 44. Frecuencias de los caracteres cualitativos de los frutos de los perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).

Variable	Características	No de genotipos	Frecuencia (No)	Porcentaje (%)	Frecuencia acumulada (No)	Porcentaje acumulado (%)
Posición del diámetro máximo	En el medio	114	49	43	49	43
	Ligeramente hacia el cáliz	114	46	40	95	83
	Claramente hacia el cáliz	114	19	17	114	100
Forma lateral	Cóncavo	114	20	18	20	18
	Recto	114	15	13	35	31
	Convexo	114	79	69	114	100
Códigos de la forma según el IBPGR (1983)	1,4	99	4	4	4	4
	1,5	99	15	15	19	19
	1,6	99	36	36	55	56
	3,2	99	12	12	67	68
	3,4	99	12	12	79	80
	3,6	99	6	6	85	86
	5,2	99	6	6	91	92
	5,4	99	5	5	96	97
	7,2	99	2	2	98	99
	7,4	99	1	1	99	100
Color de la epidermis	Verde	115	37	32	37	32
	Verde amarillento	115	11	10	48	42
	Amarillo verdoso	115	9	8	57	50
	Amarillo ocre	115	2	2	59	51
	Amarillo	115	56	49	115	100
Color de la chapa	Naranja	75	1	1	1	1
	Roja	75	74	99	75	100
Intensidad de la chapa	Pálida	75	23	31	23	31
	Media	75	26	35	49	65
	Fuerte	75	26	35	75	100
Tipo de chapa	Sin chapa	115	39	34	39	34
	A rayas gruesas	115	1	1	40	35
	A manchas	115	11	10	51	44
	Salpicada	115	1	1	52	45
	Coloreada a lavada	115	63	55	115	100
Porcentaje de “russeting”	0-25%	114	7	6	7	6
	25-50%	114	13	11	20	18
	50-75%	114	18	16	38	33
	75-100%	114	76	67	114	100
Presencia de moteado	Sin moteado	108	55	51	55	51
	Moteado moderado	108	25	23	80	74
	Moteado fuerte	108	28	26	108	100

El color de la epidermis más frecuente de la pera ha sido el amarillo (49%), seguido del verde (32%). El color de chapa rojo ha sido mayoritario (99%). La intensidad de la chapa ha variado proporcionalmente entre pálida (31%), media (35%) y fuerte (35%). El tipo de chapa más frecuente fue suave, cuando el fruto ha presentado una chapa de coloreada a lavada (55%), seguido por el fruto sin chapa (34%).

Los colores predominantes en los cultivares más importantes son el verde, el amarillo y el rojo, con su forma generalmente alargada. Se consumen cultivares de color rojo como ‘Red Bartlet’, amarillo como ‘Doctor Jules Guyot’, verde como ‘Blanquilla’ o de epidermis parcial o totalmente bronceada como ‘Conference’; y la forma preferida es la alargada-cóncava (Kappel et al., 1995; Jaeger et al., 2003; Manning, 2009). La mayor parte de las variedades cultivadas actualmente (‘Conference’, ‘Williams’, ‘Doyenné du

Comice', 'Abbe Fetel', etc.) tienen su origen en el siglo XVIII. El consumidor de pera es muy estático y su preferencia se limita a una o dos variedades (Turner et al., 2005).

La presencia de "russeting" es muy frecuente en los genotipos del CIAM, siendo lo más frecuente que lo presenten en el 76-100% de la superficie del fruto (67%) (Tabla 44). El "russeting" se puede definir como una peridermis que reemplaza a la epidermis y forma una capa continua de tejido protector, de tal manera que los tejidos verdes subyacentes son oscurecidos por quinonas marrones (Skene, 1982; Jackson, 2003). Según Hancock y Lobos (2008), la presencia de "russeting" es aceptable si es uniforme y ligero para el mercado fresco, pero no es aceptable para el procesado.

La mayor parte de los genotipos evaluados no presentaron moteado en el fruto (51%), en un 23% los ataques fueron moderados, y un 26% presentaron ataques fuertes (Tabla 44). Según Otero López y Tora Marquilles (1995), los cultivares 'Blanquilla', 'Castell' y 'Bartlett' son muy sensibles al moteado; 'Williams', 'Doyenné du Comice', 'Ercolini' y 'Precoce Morettini' son medianamente sensibles; y 'Conference', 'Passe Crassane', 'Doctor Jules Guyot' y 'Abbe Fetel' son poco sensibles.

La mayor parte de las correlaciones entre las características cualitativas han sido bajas (Tablas 45, 46 y 47), lo que corresponde con la independencia de los caracteres elegidos para el presente estudio. Las correlaciones más elevadas se han obtenido entre características de la posición del diámetro máximo, y entre el código de la forma, la forma lateral, y tipo de chapa. (Tabla 45).

Tabla 45. Correlaciones de Pearson para las características cualitativas de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables	Ploidia	RPPs	Latitud	Longitud	Recolección	Código de la forma	Posición del Diámetro Máximo		
							En el medio	Ligeramente hacia el cáliz	Claramente hacia el cáliz
Ploidia	1,00	0,10 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,02 ^{ns}
RPPs	0,10 ^{ns}	1,00	-0,12 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,28**	0,23*	-0,11 ^{ns}	-0,16 ^{ns}
Latitud	0,03 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	1,00	-0,10 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,25**
Longitud	-0,09 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	1,00	0,12 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,01 ^{ns}
Recolección	-0,09 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,12 ^{ns}	1,00	-0,15 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,07 ^{ns}
Código de la forma	-0,08 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,20*	-0,60***	0,25*	0,43***
Posición del Diámetro Máximo	En el medio	0,08 ^{ns}	0,23*	-0,08 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,3**	1,00	-0,39***
	Ligeramente hacia el cáliz	-0,06 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,34**	-0,71***	1,00
	Claramente hacia el cáliz	-0,02 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,25**	-0,01 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,39***	-0,37***
Forma lateral	Cóncavo	0,01 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,4***	0,47***
	Recto	-0,04 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,34**	0,24**
	Convexo	0,02 ^{ns}	0,22*	-0,15 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,21*	0,58***	-0,57***
Color de la epidermis	Verde	0,13 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,11 ^{ns}
	Verde amarillento	-0,02 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,09 ^{ns}
	Amarillo verdoso	0,10 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,11 ^{ns}
	Amarillo ocre	-0,11 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,12 ^{ns}
Color de la chapa	Amarillo	-0,14 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,24*	0,13 ^{ns}
	Naranja	-0,10 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,24*	-0,08 ^{ns}	0,11 ^{ns}
	Roja	0,10 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,24*	0,08 ^{ns}	-0,11 ^{ns}
Intensidad de la chapa	Pálida	0,03 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,00 ^{ns}	-0,32**	-0,03 ^{ns}	-0,16 ^{ns}
	Media	0,19 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,21 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,12 ^{ns}
	Fuerte	-0,21 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,09 ^{ns}
Tipo de chapa	Sin chapa	-0,05 ^{ns}	0,19*	0,03 ^{ns}	0,21*	0,26**	-0,86***	0,31**	-0,29**
	A rayas gruesas	0,12 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,08 ^{ns}
	A manchas	0,10 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,26**	-0,05 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,09 ^{ns}
	Salpicada	0,12 ^{ns}	-0,1 ^{ns}	0,1 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,08 ^{ns}
	Coloreada a lavada	-0,06 ^{ns}	-0,28**	-0,03 ^{ns}	-0,21*	-0,06 ^{ns}	0,85***	-0,34**	0,36***
Cantidad de "russetting"	0-25%	0,02 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,08 ^{ns}
	26-50%	-0,06 ^{ns}	0,12 ^{ns}	-0,1 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,18 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,13 ^{ns}
	51-75%	0,15 ^{ns}	0,18 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,29**	0,04 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,13 ^{ns}
	76-100%	-0,09 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,07 ^{ns}
Presencia de moteado	Sin moteado	0,00 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,45***	-0,28**	0,16 ^{ns}	-0,09 ^{ns}
	Moteado moderado	0,11 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,34**	0,06 ^{ns}	0,00 ^{ns}	-0,03 ^{ns}
	Moteado fuerte	-0,11 ^{ns}	-0,28**	0,02 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,26**	-0,18 ^{ns}	0,13 ^{ns}

Variables	Forma lateral			Color de la epidermis				
	Cóncavo	Recto	Convexo	Verde	Amarillo verdoso	Amarillo ocre	Amarillo	
Ploidia	0,01 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,1 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,14 ^{ns}
RPPs	-0,11 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,22*	-0,05 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Latitud	0,04 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Longitud	-0,09 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Recolección	-0,15 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,1 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,03 ^{ns}
Código de la forma	0,55***	0,38**	-0,74***	0,13 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Posición del Diámetro Máximo	En el medio	-0,40***	-0,34**	0,58***	0,08 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,24*
	Ligeramente hacia el cáliz	0,04 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	0 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,14 ^{ns}
	Claramente hacia el cáliz	0,47***	0,24**	-0,57***	-0,11 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,12 ^{ns}
Forma lateral	Cóncavo	1,00	-0,18 ^{ns}	-0,69***	-0,02 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-0,06 ^{ns}
	Recto	-0,18 ^{ns}	1,00	-0,58***	0,06 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,15 ^{ns}
	Convexo	-0,69***	-0,58***	1,00	-0,03 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,19*	-0,06 ^{ns}
Color de la epidermis	Verde	-0,02 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	1,00	-0,22*	-0,2*	-0,09 ^{ns}
	Verde amarillento	0,01 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,22*	1,00	-0,09 ^{ns}	-0,04 ^{ns}
	Amarillo verdoso	-0,14 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,19*	-0,2*	-0,09 ^{ns}	1,00	-0,04 ^{ns}
	Amarillo ocre	-0,06 ^{ns}	0,15 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	1,00
Color de la chapa	Amarillo	0,11 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,67***	-0,32**	-0,28**	-0,13 ^{ns}
	Naranja	-0,06 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,39**	-0,03 ^{ns}	-0,01 ^{ns}
	Roja	0,06 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,39**	0,03 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Intensidad de la chapa	Pálida	0,14 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,23*	0,1 ^{ns}	-0,08 ^{ns}
	Media	-0,17 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,08 ^{ns}
	Fuerte	0,03 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,16 ^{ns}
Tipo de chapa	Sin chapa	-0,19*	-0,17 ^{ns}	0,28**	-0,06 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,05 ^{ns}
	A rayas gruesas	-0,04 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,32**	-0,01 ^{ns}
	A manchas	0,16 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,1 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,20*	0,02 ^{ns}	-0,04 ^{ns}
	Salpicada	-0,04 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,01 ^{ns}
	Coloreada a lavada	0,10 ^{ns}	0,20*	-0,23*	0,06 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,19*	-0,01 ^{ns}
Cantidad de "russetting"	0-25%	-0,02 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,2*	-0,03 ^{ns}
	26-50%	-0,02 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,1 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,1 ^{ns}	-0,05 ^{ns}
	51-75%	0,05 ^{ns}	0,12 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,06 ^{ns}
	76-100%	-0,02 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,19*	0,04 ^{ns}	-0,28**	0,09 ^{ns}
Presencia de moteado	Sin moteado	-0,25**	-0,03 ^{ns}	0,23*	-0,03 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,13 ^{ns}
	Moteado moderado	0,30**	-0,09 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,18 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,08 ^{ns}
	Moteado fuerte	-0,01 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,1 ^{ns}	-0,08 ^{ns}

*P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001, ^{ns} no significativo.

La intensidad de la chapa se correlacionó significativamente pero con valores bajos con el color de la epidermis, la intensidad y tipo de la chapa, la cantidad del ruseting y la presencia de moteado (Tabla 46).

Tabla 46. Correlación de Pearson para las características externas cualitativas de los frutos de los perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables		Intensidad de la chapa			Tipo de chapa			
		Pálida	Media	Fuerte	Sin chapa	A rayas gruesas	A manchas	Salpicada
Ploidía		0,03 ^{ns}	0,19 ^{ns}	-0,21 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,1 ^{ns}	-0,06 ^{ns}
RPPs		-0,03 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,19*	0,16 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,10 ^{ns}
Latitud		0,11 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,1 ^{ns}
Longitud		0,03 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,1 ^{ns}	0,21*	-0,15 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,16 ^{ns}
Recolección		0 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,26**	-0,1 ^{ns}	-0,26**	-0,07 ^{ns}
Código de la forma		0,17 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,28**	-	0,17 ^{ns}	-0,07 ^{ns}
Posición del diámetro máximo	En el medio	-0,03 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,31**	0,11 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,11 ^{ns}
	Ligeramente hacia el cáliz	-0,16 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,29**	-0,08 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,08 ^{ns}
	Claramente hacia el cáliz	0,26*	-0,16 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,04 ^{ns}
Forma lateral	Cóncavo	0,14 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,19*	-0,04 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,04 ^{ns}
	Recto	-0,08 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,04 ^{ns}
	Convexo	-0,06 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,28**	0,06 ^{ns}	-0,1 ^{ns}	0,06 ^{ns}
Color de la epidermis	Verde	0,12 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,06 ^{ns}
	Verde amarillento	0,23*	-0,21 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,2*	-0,03 ^{ns}
	Amarillo verdoso	0,10 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,32**	0,02 ^{ns}	-0,03 ^{ns}
	Amarillo ocre	-0,08 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,01 ^{ns}
Color de la chapa	Amarillo	-0,27*	0,05 ^{ns}	0,21 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	0,10 ^{ns}
	Naranja	0,17 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-	-0,01 ^{ns}	0,28*	-0,01 ^{ns}
	Roja	-0,17 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-	0,01 ^{ns}	-0,28*	0,01 ^{ns}
Intensidad de la chapa	Pálida	1,00	-0,48***	-0,48***	-	-0,08 ^{ns}	0,46***	-0,08 ^{ns}
	Media	-0,48***	1,00	-0,53***	-	0,16 ^{ns}	-0,3**	-0,08 ^{ns}
	Fuerte	-0,48***	-0,53***	1,00	-	-0,08 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	0,16 ^{ns}
Tipo de chapa	Sin chapa	-	-	-	1,00	-0,07 ^{ns}	-0,23*	-0,07 ^{ns}
	A rayas gruesas	-0,08 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	1,00	-0,03 ^{ns}	-0,01 ^{ns}
	A manchas	0,46***	-0,3**	-0,14 ^{ns}	-0,23*	-0,03 ^{ns}	1,00	-0,03 ^{ns}
	Salpicada	-0,08 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	1,00
	Coloreada a lavada	-0,38**	0,26*	0,11 ^{ns}	-0,79***	-0,1 ^{ns}	-0,36***	-0,1 ^{ns}
Cantidad de "ruseting"	0-25%	0,10 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,02 ^{ns}
	26-50%	0,18 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,24*	0,09 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,03 ^{ns}
	51-75%	0,17 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,22*	0,35**	-0,04 ^{ns}
	76-100%	-0,3**	0,05 ^{ns}	0,25*	0,04 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	-0,27**	0,07 ^{ns}
Presencia de moteado	Sin moteado	-0,2 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,4***	-	-0,22*	0,09 ^{ns}
	Moteado moderado	0,28*	-0,31*	0,03 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-	0,32**	-0,05 ^{ns}
	Moteado fuerte	-0,06 ^{ns}	0,22 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,34**	-	-0,06 ^{ns}	-0,06 ^{ns}

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001, ^{ns} no significativo.

La presencia de moteado se correlacionó significativamente pero con valores bajos con la fecha de recolección, el color de la epidermis y el tipo de chapa (Tabla 47).

Tabla 47. Correlaciones de Pearson para las características cualitativas de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables	Cantidad de “russetting”				Presencia de moteado			Color de la chapa	
	12-25%	25-50%	51-75%	76-100%	Sin moteado	Moteado o moderado	Moteado fuerte	Naranja	Roja
Ploidía	0,02 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,15 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,10 ^{ns}
RPPs	-0,07 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,18 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,28**	0,05 ^{ns}	-0,05 ^{ns}
Latitud	-0,02 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,1 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,10 ^{ns}
Longitud	0,03 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,04 ^{ns}
Recolección	0,01 ^{ns}	0,18 ^{ns}	-0,29**	0,1 ^{ns}	0,45***	-0,34**	-0,18 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,11 ^{ns}
Código de la forma	-0,01 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,22*	-0,32**	0,26**	0,1 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,02 ^{ns}
Posición del									
En el medio	-0,07 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,00 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}
Diámetro									
Ligeramente hacia el cáliz	0,01 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,11 ^{ns}
Máximo									
Claramente hacia el cáliz	0,08 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Forma lateral									
Cóncavo	-0,02 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,25**	0,3**	-0,01 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,06 ^{ns}
Recto	0,01 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,12 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Convexo	0,01 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,23*	-0,18 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,09 ^{ns}
Color de la epidermis									
Verde	0,06 ^{ns}	0,1 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,19*	-0,03 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}
Verde amarillento	0,04 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,18 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,39**	-0,39**
Amarillo verdoso	0,20*	0,10 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,28**	-0,04 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,03 ^{ns}
Amarillo ocre	-0,03 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Amarillo	-0,17 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,27**	0,04 ^{ns}	-0,19 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,12 ^{ns}
Color de la chapa									
Naranja	-0,03 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,23*	-0,16 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,2 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	1,00	-1,00***
Roja	0,03 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,23*	0,16 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,2 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-1,00***	1,00
Intensidad de la chapa									
Pálida	0,10 ^{ns}	0,18 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,3**	-0,2 ^{ns}	0,28*	-0,06 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,17 ^{ns}
Media	0,08 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,07 ^{ns}	-0,31*	0,22 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}
Fuerte	-0,18 ^{ns}	-0,24*	-0,02 ^{ns}	0,25*	0,13 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}
Tipo de chapa									
Sin chapa	0,05 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,40***	-0,12 ^{ns}	-0,34**	-	-
A rayas gruesas	-0,02 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,22*	-0,13 ^{ns}	-	-	-	-0,01 ^{ns}	0,01 ^{ns}
A manchas	0,04 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,35**	-0,27**	-0,22*	0,32**	-0,06 ^{ns}	0,28*	-0,28*
Salpicada	-0,02 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,01 ^{ns}
Coloreada a lavada	-0,06 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,26**	-0,07 ^{ns}	0,37***	-0,25*	0,25*
Cantidad de “russetting”									
0-25%	1,00	-0,09 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,36***	0,03 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,03 ^{ns}
26-50%	-0,09 ^{ns}	1,00	-0,16 ^{ns}	-0,51***	0,02 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	0,04 ^{ns}
51-75%	-0,11 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	1,00	-0,61***	-0,19 ^{ns}	0,31**	-0,08 ^{ns}	0,23*	-0,23*
76-100%	-0,36***	-0,51***	-0,61***	1,00	0,11 ^{ns}	-0,23*	0,09 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,16 ^{ns}
Presencia de moteado									
Sin moteado	0,03 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,19 ^{ns}	0,11 ^{ns}	1,00	-0,56***	-0,6***	-0,09 ^{ns}	0,09 ^{ns}
Moteado moderado	-0,06 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,31**	-0,23*	-0,56***	1,00	-0,32**	0,20 ^{ns}	-0,20 ^{ns}
Moteado fuerte	0,02 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,6***	-0,32**	1,00	-0,09 ^{ns}	0,09 ^{ns}

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001, ^{ns} no significativo.

4.3.3 Características físicas, químicas y organolépticas

Para las características organolépticas, solamente el cultivar no fue significativo para la dureza del fruto con la piel cuando se realizó el análisis para los 93 cultivares y 86 cultivares (dos o más años de evaluaciones). No hubo relaciones significativas para los análisis por Año, como tampoco para la interacción Genotipo x Año (Tabla 48).

Los valores de la dureza del fruto con la piel variaron entre 3,13 kg/cm² ('Urraca') y 16,15 kg/cm² ('Donguindo'), mientras que sin piel variaron entre 1,91 kg/cm² ('CIAM OU231') y 13,45 kg/cm² ('De Codorno1') (Tabla 49). El valor medio de dureza del fruto sin la piel en la colección del CIAM fue de 5,42 kg/cm², un valor acorde a los datos de referencia para variedades comerciales (Masseron y Trillot, 1991; Manning, 2009). Los cultivares comerciales 'Doyenné du Comice' y 'Abbe Fetel', por ejemplo, presentan una dureza de 5 kg/cm².

A partir de la información resultante de la variabilidad de las características de dureza, se ponderan cuartiles generándose cuatro categorías (Tabla 50). No se encontraron diferencias significativas para la dureza de la pera entre las poblaciones reconstruidas (RPPs) por STRUCTURE, pero sí para los genotipos dentro de las RPPs. (Tabla 51). Entre RPPs, el grupo de los 'Peros' (RPP3) presentó los menores valores (Tabla 52). Entre diploides y triploides no hubo diferencia significativa (Tabla 53).

Tabla 48. Valores de F en el análisis de los datos de dureza en los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables	Genotipo	Año	Accesión (Genotipo)	Genotipo x Año
<i>93 genotipos</i>				
Dureza con la piel (kg/cm ²)	1,536 ^{ns}	0,936 ^{ns}	4,854*	1,078 ^{ns}
Dureza sin la piel (kg/cm ²)	1,921*	0,889 ^{ns}	3,553*	1,018 ^{ns}
<i>86 genotipos con 2 o más años de evaluación</i>				
Dureza con la piel (kg/cm ²)	1,52 ^{ns}	0,93 ^{ns}	4,85**	1,08 ^{ns}
Dureza sin la piel (kg/cm ²)	1,92*	0,89 ^{ns}	3,55*	1,02 ^{ns}

*P<0,05, **P<0,01, ^{ns} no significativo.**Tabla 49. Variabilidad de la dureza en los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).**

Dureza del fruto	No. ¹	Mínimo	Máximo	Media	Varianza	Desviación Típica
Con piel (kg/cm ²)	100	3,13	16,15	7,30	6,60	2,57
Sin piel (kg/cm ²)	101	1,91	13,45	5,42	6,22	2,49

¹ Número de genotipos**Tabla 50. Cuartiles para las características de la dureza en los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).**

Dureza del fruto	Cuartiles			
	0-25%	26-50%	51-75%	76-100%
Con piel (kg/cm ²)	≤5,2	5,3-6,7	6,8-8,6	≥8,7
Sin piel (kg/cm ²)	≤3,3	3,4- 4,7	4,8- 6,5	≥6,6

Tabla 51. Valores de F en los análisis de varianza de los datos de la dureza en los frutos de perales del CIAM (Xunta de Galicia) teniendo como factor las RPPs.

Dureza del fruto	RPPs	Genotipo (RPPs)
Con piel (kg/cm ²)	1,31 ^{ns}	1,52*
Sin piel (kg/cm ²)	0,02 ^{ns}	1,99***

*P<0,05, ***P<0,001, ^{ns} no significativo.**Tabla 52. Valores medios por población reconstruida (RPP) para las características de la dureza en los frutos de los perales del CIAM (Xunta de Galicia).**

RPPs	Dureza con piel (kg/cm ²)	Dureza sin piel (kg/cm ²)
1, 'Williams'	7,07a	5,85a
2, 'Mantecosa Hardy'	7,19a	5,29a
3 'Peros'	6,42a	4,81a

Para cada columna, las medias con letras diferentes son significativamente distintas (P = 0,05) según el test de rangos múltiple de Student–Newman–Keuls.

Tabla 53. Valores de F en los análisis de varianza de los datos de la dureza en los frutos de la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia) teniendo como factor la ploidía.

Dureza del fruto	RPP1 y 2	RPP1, 2 y 3
Con piel (kg/cm ²)	0,04 ^{ns}	0,17 ^{ns}
Sin piel (kg/cm ²)	0,79 ^{ns}	0,73 ^{ns}

^{ns} no significativo

En relación a la textura de la pulpa del fruto, la más frecuente fue la textura media de la carne (51%) con una jugosidad elevada (jugosa, 61%) y un dulzor medio (40%) (Tabla 54). En general, la fruta destinada a extraer el jugo debe ser de buena calidad gustativa, y más cuando madura, con tejidos más blandos, mayor contenido de azúcar, de color más intenso y menor acidez (Bates et al., 2001). La textura de la fruta afecta la liberación de jugo y la disponibilidad de los ácidos, azúcares y sustancias volátiles en la boca, y esto va a determinar el sabor de las peras (Eccher Zerbini et al., 1998).

Tabla 54. Frecuencias de los datos cualitativos para las características de los frutos de perales del CIAM (Xunta de Galicia).

Variable	Características	Genotipos (No.)	Frecuencia (No.)	Porcentaje (%)	Frecuencia acumulada (No.)	Porcentaje acumulado (%)
Textura de la pulpa	Fina	112	14	13	14	13
	Media	112	57	51	71	63
	Basta	112	41	37	112	100
Jugo de la pulpa	Seca	112	17	15	17	15
	Media	112	27	24	44	39
	Jugosa	112	68	61	112	100
Dulzor	Ausente	112	8	7	8	7
	Débil	112	26	23	34	30
	Medio	112	45	40	79	71
	Fuerte	112	33	29	112	100

Para las características químicas del zumo, tanto para todos los cultivares utilizados, como para aquellos con dos o más años de observación, el contenido en azúcares totales no fue significativo, excepto para la ccesión (genotipo). Del mismo modo, para el genotipo, el año y el genotipo x año, solo hubo significancia para la variable del pH. En cuanto al ácido málico solo hubo diferencias significativas para el genotipo (Tabla 55).

Tabla 55. Valores de F de los análisis de varianza de las características de los zumos de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables	Genotipo	Año	Accesión (Genotipo)	Genotipo x Año
<i>Para todos los genotipos (112)</i>				
Azúcares totales (°Brix)	2,11 ^{ns}	1,07 ^{ns}	7,49*	1,04 ^{ns}
<i>Para genotipos con 2 o más años</i>				
Azúcares totales (°Brix) (95 genotipos)	2,12 ^{ns}	1,07 ^{ns}	7,49*	1,04 ^{ns}
pH (64 genotipos)	5,73***	10,34***	0,27 ^{ns}	2,16*
Acido málico (g/l) (64 genotipos)	2,92***	0,96 ^{ns}	1,40 ^{ns}	1,55 ^{ns}

*P<0,05, ***P<0,001, ^{ns} no significativo.

El contenido en azúcares varió entre 8,20 °Brix (‘CIAM LU214’) y 16,20 °Brix (‘CIAM OU223’), con una media de 12,91 °Brix. El pH del zumo varió entre 3,26 (‘CIAM CO70’ y ‘Manteca Canela Agosto’) y 5,05 (‘Temprana de Agosto’). El valor mínimo para el ácido málico fue de 0,94 g/l (‘CIAM LU207’ y ‘CIAM LU214’) y el máximo de 8,04 g/l (‘Peros de Santos’) (tabla 56).

Tabla 56. Variabilidad de los datos cuantitativos de los zumos de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables	Genotipos (No.)	Mínimo	Máximo	Media	Varianza	Desviación típica
Azúcares totales (°Brix)	112	8,20	16,20	12,91	2,81	1,68
pH del Zumo	64	3,26	5,05	4,01	0,16	0,40
Acido málico (g/l)	64	0,94	8,04	3,33	2,82	1,68

Los cuartiles muestran que los valores inferiores a 10 °Brix los presentaron un 25% de los genotipos, los valores superiores a 14 °Brix otro 25%, mientras que el 50% de los genotipos mostraron valores entre 10 y 14 °Brix (Tabla 57), valores que presentan otros cultivares comerciales (Jackson, 2003). Por otra parte, un 25% de los valores de ácido málico superiores a 4,4 muestran cierta posibilidad de selección de genotipos de interés para la producción de sidra (“perry”). Las poblaciones reconstruidas (RPPs) mostraron diferencias significativas para el ácido málico, mientras que el genotipo dentro de las RPPs fue significativo para los azúcares totales, el pH y el ácido málico (Tabla 58). La RPP1 ‘Williams’ presentó los menores valores para el ácido málico, y la RPP3 ‘Peros’ los máximos (Tabla 59); y al contrario para los azúcares totales. Entre triploides y diploides no hubo diferencia significativa entre las características del zumo (Tabla 60).

Tabla 57. Cuartiles de las características de los zumos de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables	Cuartiles			
	0-25%	26-50%	51-75%	76-100%
Azúcares totales (°Brix)	≤10	11-12	13	≥14
pH del zumo	≤3,69	3,70-3,89	3,90-4,27	≥4,28
Acido málico (g/l)	≤1,9	2,0-3,0	3,1-4,3	≥4,4

Tabla 58. Valores de F en los análisis de varianza de los datos de los zumos de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia) según las RPPs.

Variables	RPPs	Genotipo (RPPs)
Azúcares totales (°Brix)	0,04 ^{ns}	2,13***
pH del zumo	2,95 ^{ns}	1,60*
Acido málico (g/l)	5,75**	1,86**

*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001, ^{ns}no significativo.

Tabla 59. Valores medios por población reconstruida (RPP) para las características de los zumos de los frutos de los perales del CIAM (Xunta de Galicia).

RPPs	Azúcares totales (°Brix)	pH del zumo	Acido málico (g/l)
1, 'Williams'	12,61a	3,93a	3,09a
2, 'Mantecosa Hardy'	12,50a	4,07a	3,35a
3, 'Peros'	12,37a	4,02a	3,54a

Para cada columna, las medias con letras diferentes son significativamente distintas ($P = 0,05$) según el test de rangos múltiple de Student–Newman–Keuls.

Tabla 60. Valores de F en los análisis de varianza de los datos de los zumos de los de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia) según la ploidía.

Variables	RPP1 y 2	RPP1, 2 y 3
Azúcares totales (°Brix)	0,59 ^{ns}	0,22 ^{ns}
pH del zumo	1,40 ^{ns}	4,68 ^{ns}
Acido málico (g/ L)	1,75 ^{ns}	4,90 ^{ns}

^{ns} no significativo

Las correlaciones de las características del zumo fueron, en general, bajas (Tabla 61). El ácido málico presentó una elevada correlación negativa (-0,74, $P < 0,01$) con el pH, puesto que el ácido málico es el ácido más importante en las peras.

Tabla 61. Correlaciones de Pearson para las características físicas, organolépticas y químicas de los frutos de perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables	Ploidía	RPPs	Latitud	Longitud	R	Dureza		Textura de la pulpa		
						CP ¹	SP ²	Fina	Media	Basta
Ploidía	1,00	0,10 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	0,11 ^{ns}
RPPs	0,10 ^{ns}	1,00	-0,12 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,25**
Latitud	0,03 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	1,00	-0,10 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,02 ^{ns}
Longitud	-0,09 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	1,00	0,12 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,27**	-0,10 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,00 ^{ns}
Recolección	-0,09 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,08 ^{ns}	0,12 ^{ns}	1,00	0,33**	0,08 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,07 ^{ns}
Dureza	CP ¹	0,01 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,33**	1,00	0,84***	-0,18 ^{ns}	0,01 ^{ns}
	SP ²	-0,09 ^{ns}	0,11 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,27**	0,08 ^{ns}	0,84***	1,00	-0,09 ^{ns}	0,03 ^{ns}
Textura de la pulpa	Fina	-0,08 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	1,00	-0,38***
	Media	-0,05 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,38***	1,00
	Basta	0,11 ^{ns}	0,25**	0,02 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,07 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,29**	-0,77***
Jugo de la pulpa	Seca	-0,03 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,16 ^{ns}	0,15 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,18 ^{ns}
	Media	0,06 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	-0,16 ^{ns}
	Jugosa	-0,03 ^{ns}	-0,24*	0,09 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,27**
Dulzor de la pulpa	Ausente	-0,01 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,39***	0,41***	0,1 ^{ns}	-0,07 ^{ns}
	Débil	-0,18 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,26**	0,18 ^{ns}	0,18 ^{ns}	-0,03 ^{ns}
	Medio	0,27**	-0,22*	0,12 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,03 ^{ns}
	Fuerte	-0,12 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,25**	-0,36**	-0,20*	-0,13 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Zummo	AZ ³	-0,08 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,19 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,19 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,08 ^{ns}
	pH	-0,15 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,19 ^{ns}	-0,25*	-0,05 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	0,17 ^{ns}
	AM ⁴	0,17 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,13 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,32*	0,2 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,10 ^{ns}

Variables	Jugo de la pulpa			Dulzor de la pulpa				AZ ³	pH	AM ⁴
	Seca	Media	Jugosa	Ausente	Débil	Medio	Fuerte			
Ploidía	-0,03 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	0,27**	-0,12 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	0,17 ^{ns}
RPPs	0,17 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-0,24*	0,04 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,22*	0,13 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,17 ^{ns}	0,06 ^{ns}
Latitud	-0,17 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,05 ^{ns}	0,19 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,13 ^{ns}
Longitud	-0,03 ^{ns}	0,1 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,19 ^{ns}	0,09 ^{ns}
Recolección	0,09 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,25**	0,19 ^{ns}	-0,25*	0,32*
Dureza	CP	0,16 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,39***	0,26**	-0,06 ^{ns}	-0,36**	-0,13 ^{ns}	-0,05 ^{ns}
	SP	0,15 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,41***	0,18 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,20*	-0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}
Textura de la pulpa	Fina	-0,01 ^{ns}	-0,02 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,1 ^{ns}	0,18 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,14 ^{ns}
	Media	-0,18 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,27**	-0,07 ^{ns}	0,03 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,17 ^{ns}
	Basta	0,20*	0,18 ^{ns}	-0,30**	0,01 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	0,1 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,1 ^{ns}	-0,06 ^{ns}
Jugo de la pulpa	Seca	1,00	-0,24*	-0,53***	0,08 ^{ns}	0,30**	-0,25**	-0,06 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,07 ^{ns}
	Media	-0,24*	1,00	-0,70***	0,01 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,01 ^{ns}
	Jugosa	-0,53***	-0,70***	1,00	-0,06 ^{ns}	-0,29**	0,17 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,05 ^{ns}
Dulzor de la pulpa	Ausente	0,08 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	1,00	-0,15 ^{ns}	-0,23*	-0,18 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,01 ^{ns}
	Débil	0,30**	0,09 ^{ns}	-0,29**	-0,15 ^{ns}	1,00	0,45***	-0,36**	-0,20*	0,10 ^{ns}
	Medio	-0,25**	0,01 ^{ns}	0,17 ^{ns}	-0,23*	-0,45***	1,00	0,53***	0,02 ^{ns}	-0,22 ^{ns}
	Fuerte	-0,06 ^{ns}	-0,09 ^{ns}	0,12 ^{ns}	-0,18 ^{ns}	-0,36**	0,53***	1,00	0,23*	0,14 ^{ns}
Zummo	AZ	-0,06 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,20*	0,02 ^{ns}	0,23*	1,00	-0,35**
	pH	0,07 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,1 ^{ns}	-0,22 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,35**	1,00
	AM	-0,07 ^{ns}	0,05 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,09 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,12 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,35**	-0,74***

*P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001; ^{ns} no significativo; ¹fruto con piel; ²fruto sin piel; ³azúcares totales (°Brix); ⁴ácido málico (g/l).

4.4 Análisis de componentes principales

Se llevó a cabo un primer análisis de componentes principales (ACP) con 395 variables (49 características morfológicas, 15 estadios fenológicos, y 331 alelos), y fue posible analizar 40 genotipos, 16 de ellos triploides (40%). Las tres primeras componentes principales agruparon el 12,57% de la variación, 5,42% (F1), 3,89% (F2) y 3,26% (F3). Para acumular el 50% de la variación serían necesarias 24 componentes (Figura 50).

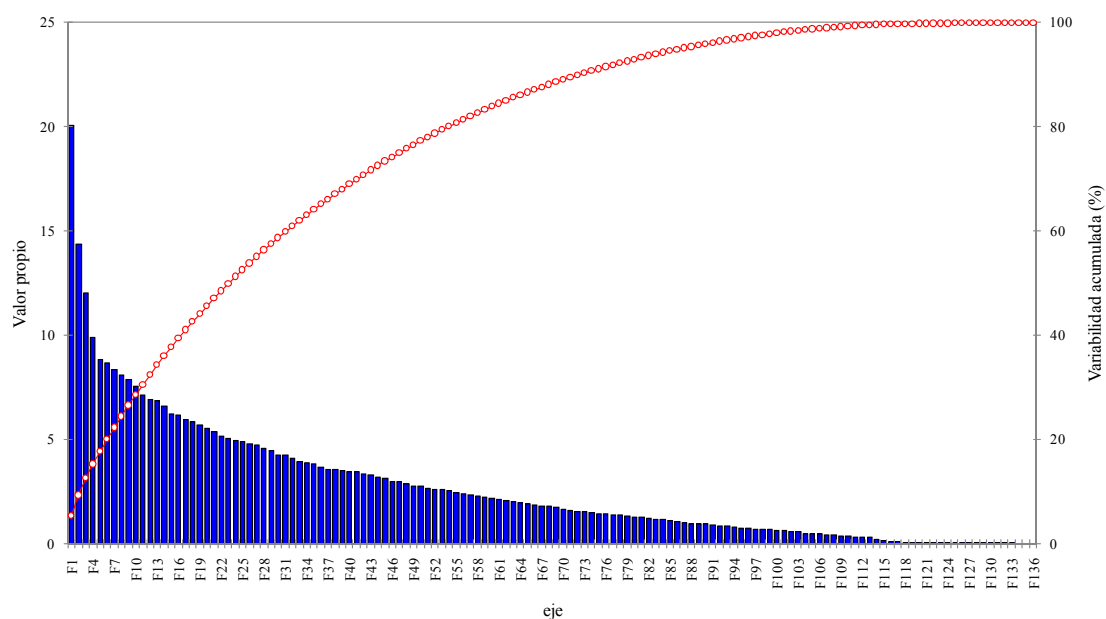


Figura 50. Relación entre el número de componentes principales (F), su valor propio y la variabilidad acumulada resultante del análisis de componentes principales (ACP) con 49 variables morfológicas, 15 estadios fenológicos y 331 alelos de los perales del CIAM (Xunta de Galicia).

De las 395 variables incluidas en el análisis, 60 variables (19 caracteres morfológicos, 14 estadios fenológicos y 27 alelos) presentaron vectores propios con valores mayores o iguales a + 0,100 y -0,100 (Tabla 62). Las características del fruto fueron determinantes para la F3 (entre -0,110 y +0,170), y las características fenológicas (entre -0,148 y +0,184) para la F1. Para la F1 (vectores propios entre - 0,110 y +0,104), se detectaron cinco alelos con vectores propios negativos, CH01d03-130, CH01f07a-190, CH02c11-217, CH03g07-232, y EMPc11-138; y uno con valor positivo, el alelo CH02b10-122. En la F2 (vectores propios entre -0,100 y +0,220), 18 alelos presentaron vectores propios positivos CH01d03-145, CH01d03-151, CH01f07-205, CH01f07-207, CH02b10-116, CH02c09-231, CH02c11-221, CH02d11-99, CH03d12-97, CH03g07-250,

CH03g07-258, CH04c07-94, CH04e03-188, GD147-135, EMPc11-151, EMPc117-105, GD142-140, GD142-143, y GD147-135. Otros dos alelos tuvieron influencia positiva en la F3, CH01d09-157 y GD147-135 (+0,110 y +0,100, respectivamente).

Entre los 27 alelos que tuvieron influencia en las tres primeras componentes principales, se encontraron nueve alelos específicos para *P. communis* (Tabla 20 y Tabla 62), cinco con vectores propios negativos para la F1 CH01d03 (130), CH01f07a (190), CH02c11 (217), CH03g07 (232), EMPc11 (138); dos con vectores propios positivos para la F2, CH01d03 (145) y CH01f07a (205); y dos más con vectores propios positivos para la F3 CH01d09 (157) y GD142 (168). Además, en la F2 tres alelos específicos para genotipos gallegos tuvieron valores positivos, CH02b10 (116), CH02c11 (221), y EMPc11 (151).

La representación de las tres primeras componentes muestra cierta agrupación de genotipos según las RPPs (Figura 51), sobre todo por el peso que presentan los alelos en la F1. En la primera representación con la F1 y la F2 (9,31% de la variación), se observa la formación de tres grupos, el primero compuesto con los genotipos clasificados en la RPP1, el segundo con la mayor parte de los genotipos de la RPP2, y el tercero formado por cinco cultivares triploides y un cultivar perteneciente a la RPP3 con $qI > 80\%$ ('De San Juan1'). La F1 y la F3, que acumularon el 8,68% de la variación, también produjeron la agrupación de cultivares según la RPPs.

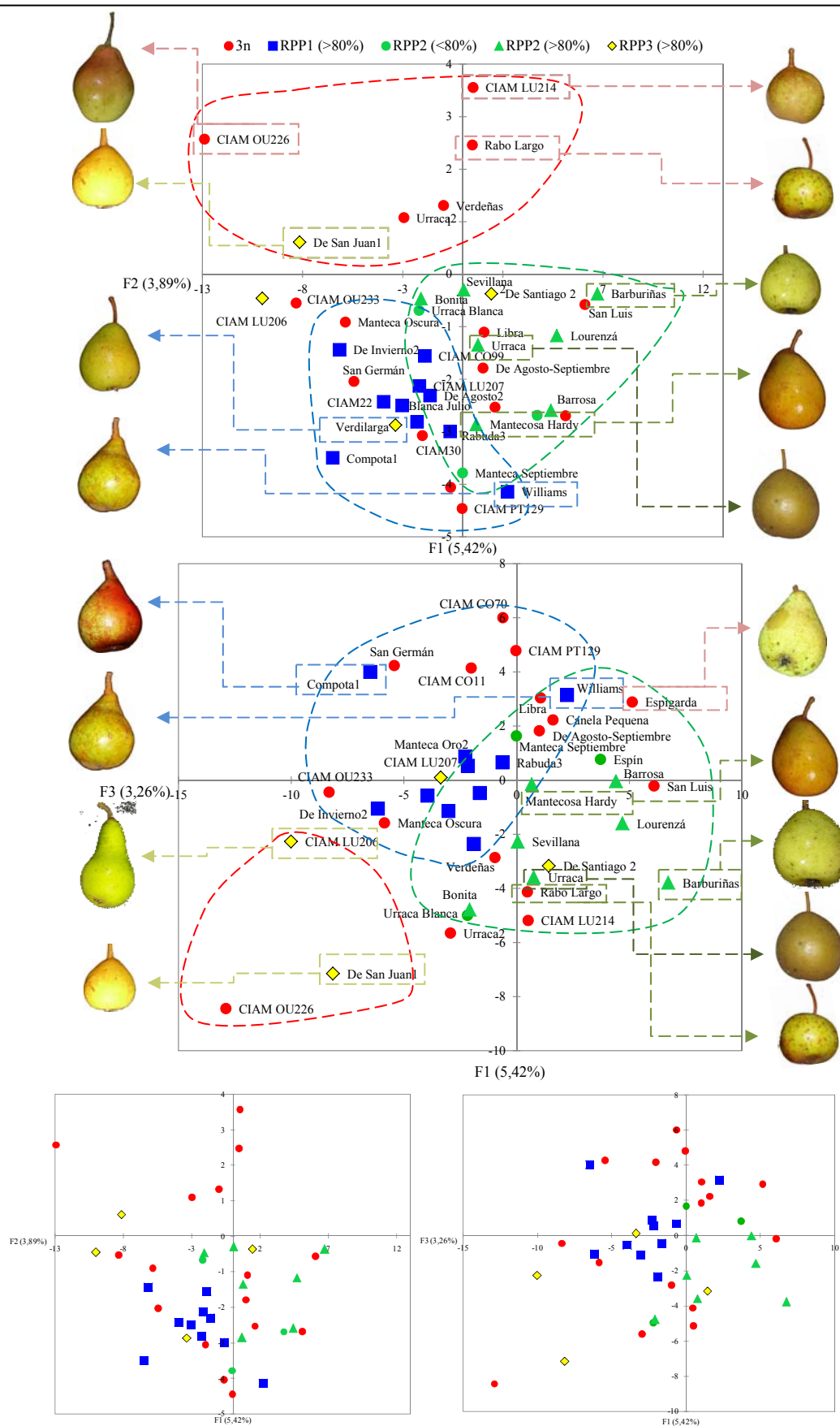


Figura 51. Análisis de componentes principales (ACP) con 49 variables morfológicas, 15 estadios fenológicos y 331 alelos teniendo en cuenta las poblaciones reconstruidas (RPPs) para los perales pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).

Tabla 62. Vectores propios mayores o inferiores a 0,1 en las tres primeras componentes para 19 variables de morfología, 15 de fenología y 27 alelos principales en un análisis de componentes principales con 395 variables evaluadas en los perales pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).

Variables		F1 (5,42%)	F2 (3,89%)	F3 (3,26%)
Características fenológicas	B	-0,068	-0,049	0,100
	C	0,148	-0,012	0,049
	C3	0,168	-0,035	0,080
	D	0,174	-0,046	0,091
	D3	0,167	-0,034	0,080
	E	0,179	-0,040	0,087
	E2	0,180	-0,035	0,100
	IF	0,180	-0,036	0,078
	PF	0,184	-0,045	0,092
	FF	0,175	-0,052	0,100
	G	0,183	-0,045	0,084
	H	0,183	-0,046	0,090
	I	0,176	-0,042	0,100
	J	0,163	-0,038	0,089
Características morfológicas	Peso (g)	-0,047	-0,036	0,160
	Longitud [L (mm)]	-0,086	-0,097	0,170
	Diámetro máximo [DM (mm)]	-0,038	-0,023	0,160
	Rella (Relación ente L y DM)	-0,091	-0,116	0,087
	Distancia al DM [DDM (mm)]	-0,059	-0,043	0,170
	pH	-0,011	0,054	-0,100
	Código de la forma	-0,081	-0,067	0,100
	Posición del DM	En el medio	0,071	0,10
		Ligeramente hacia el cáliz	-0,044	-0,046
		Claramente hacia el cáliz	-0,037	-0,067
	Perfil lateral	Cóncavo	-0,087	-0,065
		Recto	-0,014	-0,046
		Convexo	0,083	0,087
	Textura de la pulpa	Fina	-0,022	-0,031
		Media	-0,002	-0,014
		Basta	0,017	0,035
	Jugo de la Pulpa	Seca	0,029	0,056
		Media	0,054	0,010
		Jugosa	-0,068	-0,049
Alelos	CH01d03-130	-0,108	-0,020	0,025
	CH01d03-145	-0,050	0,110	-0,034
	CH01d03-151	0,035	0,100	0,030
	CH01d09-157	-0,053	-0,080	0,110
	CH01f07a-190	-0,099	-0,048	0,075
	CH01f07a-205	0,016	0,120	0,033
	CH01f07a-207	-0,031	0,170	0,110
	CH02b10-116	-0,004	0,220	0,140
	CH02b10-122	0,104	0,002	-0,040
	CH02c09-231	-0,004	0,220	0,140
	CH02c11-217	-0,102	0,034	0,015
	CH02c11-221	0,007	0,170	0,086
	CH02d11-101	-0,034	-0,061	0,110
	CH02d11-99	-0,004	0,220	0,140
	CH03d12-97	-0,004	0,220	0,140
	CH03g07-232	-0,110	-0,022	0,032
	CH03g07-250	-0,004	0,220	0,140
	CH03g07-258	0,001	0,160	0,071
	CH04c07- 94	-0,004	0,220	0,140
	CH04e03-188	-0,004	0,220	0,140
	EMPc11-138	-0,109	-0,010	0,006
	EMPc11-151	0,011	0,140	0,079
	EMPc117-105	-0,014	0,160	0,110
	GD142-140	-0,004	0,220	0,140
	GD142-143	-0,004	0,220	0,140
	GD142-168	-0,009	-0,059	0,100
	GD147-135	-0,043	0,140	-0,005

B, C y C3, la yema empieza a hincharse; D y D3, aparición de los botones florales; E, los pétalos dejan ver los sépalos; E2, primera flor; F, primera flor abierta; F2, plena floración; G, caída de los primeros pétalos; H, caída de los últimos pétalos; I y J, engrosamiento de los frutos.

En un segundo análisis de componentes principales se han considerado solo los caracteres que presentaron valores mayores o iguales a + 0,100 y -0,100, para mejorar el análisis de la variabilidad de la colección. En el nuevo ACP, se han mantenido por su importancia los caracteres tecnológicos, azúcares totales, pH, ácido málico y recolección. Para los estadios fenológicos se mantuvieron solamente los estadios únicos más avanzados (C3, D3, E2, PF, G, H, I y J). En total se han analizado 62 variables: 26 caracteres morfológicos, 9 fenológicos y 27 alelos (Tabla 63). Con estas variables, el número de genotipos evaluados aumentó de 40 a 56, de los cuales 24 fueron triploides (43%). Las tres primeras componentes principales agruparon ahora el 44,21% de la variación, el 19,49% la F1, el 14,18% la F2 y el 10,54% la F3 (Tabla 63, Figura 52).

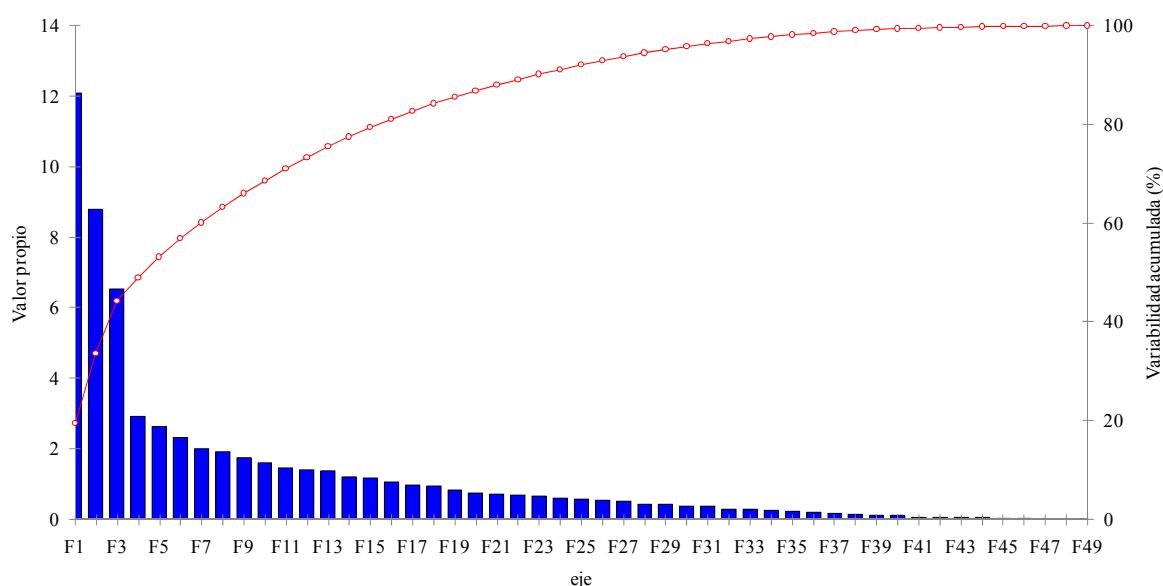


Figura 52. Relación entre el número de componentes principales (F), su valor propio y la variabilidad acumulada resultante del análisis de componentes principales con 26 variables morfológicas, 9 estadios fenológicos y 27 alelos de los perales del CIAM (Xunta de Galicia).

Para acumular el 50% de la variación serían necesarias las cinco primeras componentes principales. Un total de 12 alelos tuvieron una mayor importancia en la F1 (Tabla 64), CH01f07a (207), CH02b10 (116), CH02c09 (231), CH02c11 (221), CH02d11 (99), CH03d12 (97), CH03g07 (250), CH04c07 (94), CH04e03 (188), EMPc117 (105), y GD142 (140, 143). Los estadios fenológicos tuvieron influencia positiva en la F2, con vectores propios entre 0,242 y 0,268. Las características de morfología que más influyeron positivamente en la F3 fueron el peso, la longitud, el diámetro máximo, la relación entre longitud y diámetro máximo (Rella), la distancia al diámetro máximo (DDM), y el código

de forma; negativamente influyeron sobre todo la posición del diámetro máximo en el medio y el perfil lateral convexo (Tabla 63).

En la representación de las F1 y F2 (33,67% de la varianza acumulada), se observa la formación de dos grandes grupos de cultivares (Figura 53), correspondiéndose con las poblaciones reconstruidas (RPPs) identificadas por la caracterización genética. El primero está compuesto con los cultivares de la RPP1, y el segundo con la mayor parte de los cultivares de la RPP2. En la F2 tienen influencia positiva los estadios fenológicos, lo que se refleja en que los genotipos de la RPP2 se separen en esta componente, tomando valores más positivos que los genotipos de la RPP1. Aunque en la representación entre la F1 y F3 (30,03% de la varianza acumulada) también se produce cierta agrupación debido a la influencia de los datos morfológicos en la F3, se produce solapamiento entre las RPPs, puesto que existe una amplia diversidad en la morfología de los genotipos de cada RPP (Tabla 63, Figura 53). La complejidad de la RPP3 otra vez se refleja en la figura, donde los genotipos ‘Verdilarga’, ‘De San Juan1’, y ‘CIAM LU206’ (todos con $qI < 80\%$), se mezclan con la RPP1, mientras que ‘Manteca Blanca Agosto’ ($qI < 80\%$) y el genotipo ‘De Santiago2’ ($qI < 80\%$) quedaron en una posición intermedia entre la RPP1 y la RPP2; y el genotipo ‘Donguindo’ quedó aislado ($qI > 80\%$). Cuatro genotipos se destacaron en la parte positiva de la F1 debido a su floración más tardía, y un bajo pH; dos triploides (‘Peros de Santos’ y ‘Libra’), ‘Sevillana’ (RPP2, $qI < 80\%$) y ‘Donguindo’ (RPP3, $qI > 80\%$); pero el peso de los SSRs fue determinante (Figura 53), puesto que los genotipos ‘Sevillana’, ‘Peros de Santos’ y ‘Donguindo’ están muy próximos en el dendrograma, indicando su similitud genética. ‘Manteca Oro1’ es uno de los genotipos más diferenciados en la figura donde se enfrentan las componentes F1 y F3, debido a su elevado peso y las relaciones de tamaño más elevadas. Por otra parte, ‘Peros de Santos’ presenta características opuestas a ‘Manteca Oro1’ para las mismas componentes.

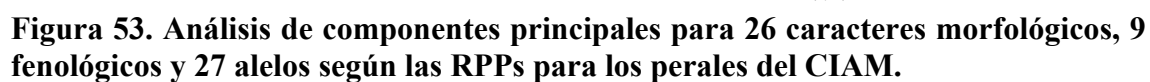


Tabla 63. Vectores propios de las tres primeras componentes principales (F1, F2 y F3) para 26 caracteres morfológicos, 9 estadios fenológicos y 27 alelos para los perales de la colección del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables		F1 (19,49%)	F2 (14,18%)	F3 (10,54%)
Características fenológicas	C3	-0,015	0,247	0,196
	D3	-0,010	0,264	0,186
	E2	-0,002	0,262	0,164
	PF	-0,012	0,257	0,211
	G	-0,009	0,268	0,206
	H	0,001	0,260	0,208
	I	-0,003	0,242	0,182
	J	-0,012	0,262	0,160
Características morfológicas	R	0,006	0,047	0,040
	Peso (g)	0,041	-0,122	0,228
	Longitud [L (mm)]	-0,010	-0,189	0,277
	Diámetro máximo [DM (mm)]	0,051	-0,093	0,205
	Rella (Relación ente L y DM)	-0,062	-0,189	0,198
	Distancia al DM [DDM (mm)]	0,041	-0,133	0,231
	Azúcares totales (°Brix)	0,039	-0,041	0,044
	pH	0,007	0,038	-0,172
	Ácido málico (g/l)	0,001	0,017	0,117
	Código de la forma	-0,015	-0,175	0,200
	Posición del DM	En el medio	0,042	-0,199
		Ligeramente hacia el cáliz	-0,028	0,068
		Claramente hacia el cáliz	-0,018	0,174
	Perfil lateral	Cóncavo	-0,019	0,155
		Recto	-0,019	0,137
		Convexo	0,029	-0,227
	Color de la epidermis	Verde	-0,020	0,021
		Verde amarillento	-0,009	0,027
		Amarillo verdoso	-0,003	-0,111
		Amarillo ocre	-0,009	0,062
		Amarillo	0,027	0,011
	Textura de la pulpa	Fina	-0,019	0,020
		Media	0,026	0,114
		Basta	-0,014	-0,133
	Jugo de la Pulpa	Seca	-0,008	-0,121
		Media	-0,010	-0,058
		Jugosa	0,015	0,139
Alelos	CH01d03-130	-0,013	-0,147	-0,010
	CH01d03-145	0,097	-0,068	-0,080
	CH01d03-151	0,107	0,049	-0,009
	CH01d09-157	-0,023	-0,082	0,139
	CH01f07a-190	-0,021	-0,164	0,059
	CH01f07a-205	0,134	0,038	-0,035
	CH01f07a-207	0,209	-0,024	-0,016
	CH02b10-116	0,285	0,000	0,020
	CH02b10-122	-0,018	0,132	0,020
	CH02c09-231	0,285	0,000	0,020
	CH02c11-217	0,043	-0,142	-0,069
	CH02c11-221	0,212	0,022	-0,005
	CH02d11-101	-0,017	-0,083	0,167
	CH02d11-99	0,285	0,000	0,020
	CH03d12-97	0,285	0,001	0,020
	CH03g07-232	-0,011	-0,174	0,011
	CH03g07-250	0,285	0,000	0,020
	CH03g07-258	0,176	0,010	-0,009
	CH04c07- 94	0,285	0,000	0,019
	CH04e03-188	0,285	0,000	0,020
	EMPc11-138	-0,016	-0,155	-0,046
	EMPc11-151	0,172	0,012	0,021
	EMPc117-105	0,210	-0,027	0,040
	GD142-140	0,285	0,000	0,020
	GD142-143	0,285	0,000	0,020
	GD142-168	-0,019	-0,034	0,151
	GD147-135	-0,013	-0,147	-0,010

C3, la yema empieza a hincharse; D3, aparición de los botones florales; E2, primera flor; F2, plena floración; G, caída de los primeros pétalos; H, caída de los últimos pétalos; I y J, engrosamiento de los frutos; R, recolección de los frutos.

En un tercer análisis de componentes principales se han eliminado los alelos y se han mantenido las 49 características morfológicas, los 15 estadios fenológicos para los 41 genotipos de los que se disponía de información completa, de los cuales 17 son triploides (41%). Las tres primeras componentes principales agruparon el 37,59% de la variación, con el 19,55% en la F1, el 10,56% en la F2 y el 7,48% en la F3. Para agrupar el 50% de la variación serían necesarias las primeras seis componentes principales (Figura 54).

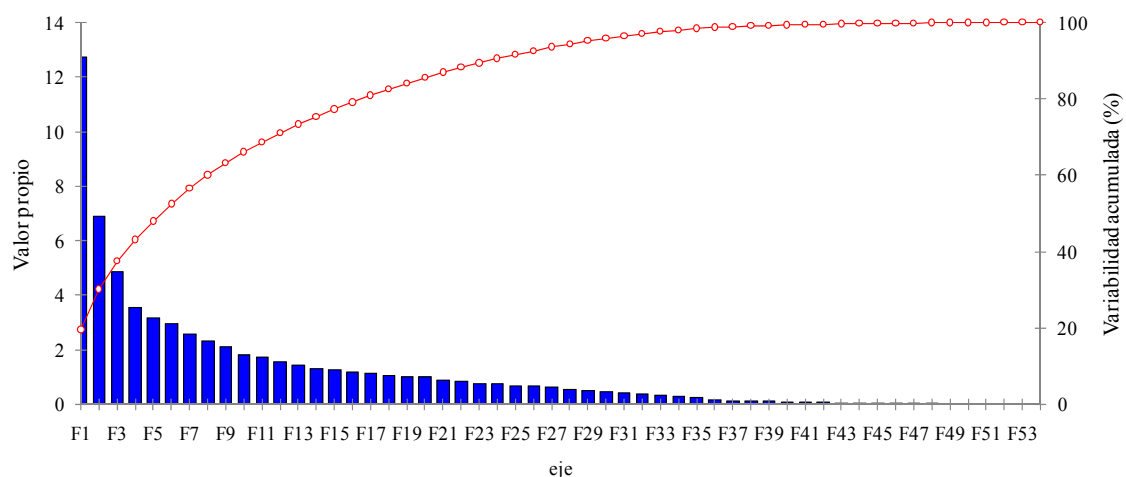


Figura 54. Relación entre el número de componentes principales (F), su valor propio y la variabilidad acumulada resultante del análisis de componentes principales con 49 datos morfológicos y 15 fenológicos de los frutos de los perales pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).

Observando la distribución de los 41 genotipos según las tres primeras componentes principales a partir de 64 variables, a pesar de la importante variación acumulada (37,59%), se produce una mezcla entre poblaciones reconstruidas (Figura 55). Las RPP1 y RPP2 se superponen, lo que confirma que las RPPs presentan características similares, lo cual se entiende, puesto que estas dos poblaciones tienen su origen en variedades comerciales de elevado valor comercial, y los agricultores habrían buscado y mantenido estas características en la descendencias que dieron lugar a los nuevos cultivares locales de la colección del CIAM.

Como sucedió en los análisis con los alelos, los caracteres fenológicos fueron los que tuvieron mayor peso, en este caso con vectores positivos para F1 (0,206-0,262) (Tabla 64). Las características morfológicas relacionadas con el tamaño tuvieron vectores propios positivos para F2, tales como el peso, el diámetro máximo, la longitud, la relación longitud y diámetro máximo (Rella), la distancia al diámetro máximo y el código de la forma; y con vectores propios negativos para la posición del diámetro máximo en el medio y el perfil

lateral convexo. La fecha de recolección, la dureza del fruto con piel, el color de chapa roja, la cantidad de russeting entre 76-100%, y la ausencia de moteado fueron negativos para la tercera componente (F3). El color de chapa naranja, la intensidad de chapa pálida, el tipo de chapa a manchas, la cantidad de russeting entre 51-75%, y la presencia de moteado moderado fueron positivos para esta componente.

Como ha sucedido en los análisis anteriores, la fenología de la floración ha distribuido los genotipos en la F1, situándose en posiciones más positivas los genotipos de floración más tardía. La RPP2 (grupo ‘Mantecosa Hardy’) presentó, de media, una ligera floración más tardía (Figura 55). Los genotipos que produjeron las peras más grandes están en la parte positiva del F2. Los genotipos con frutos con abundante “russeting”, chapa roja y baja presencia de moteado se localizaron en la parte negativa del eje F3. Los triploides destacaron en la parte positiva del F2 debido a su mayor tamaño y peso. Otra vez más constatamos que las características cuantitativas externas del fruto, principalmente peso, y las relaciones de tamaño, han sido un aspecto relevante en la selección de los cultivares del CIAM, con una selección positiva a favor de los triploides, presentando estos últimos un incremento importante (17%) en el peso y en el diámetro máximo de los frutos (4%).

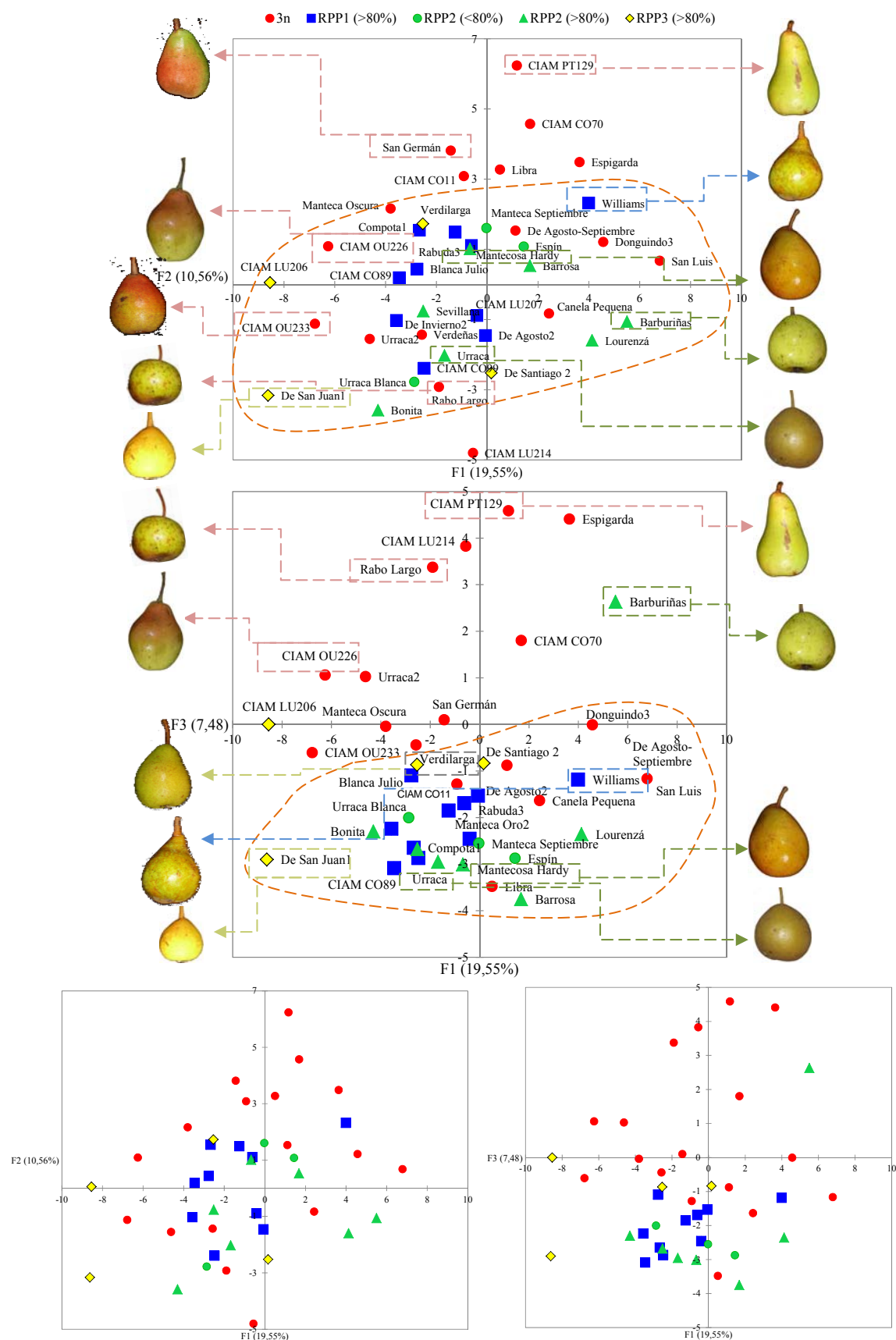


Figura 55. Análisis de componentes principales con base en 49 caracteres morfológicos, 15 estadios fenológicos teniendo en cuenta los RPPs para los genotipos de perales pertenecientes al CIAM (Xunta de Galicia).

Tabla 64. Vectores propios de las tres primeras componentes principales (F1, F2 y F3) para 49 caracteres morfológicos, 15 estadios fenológicos para los perales de la colección de perales del CIAM (Xunta de Galicia).

Variables		F1 (19,55%)	F2 (10,56%)	F3 (7,48%)
Características fenológicas	B	0,206	0,009	0,014
	C	0,243	0,061	0,013
	C3	0,255	0,074	0,021
	D	0,242	0,078	0,058
	D3	0,260	0,069	0,027
	E	0,260	0,083	0,003
	E2	0,246	0,049	0,009
	IF	0,262	0,073	0,003
	PF	0,255	0,085	0,000
	FF	0,259	0,071	-0,009
	G	0,259	0,081	-0,010
	H	0,252	0,083	-0,010
	I	0,228	0,061	-0,032
	J	0,243	0,040	-0,010
	R	0,050	-0,019	-0,214
Características morfológicas	Peso (g)	-0,037	0,228	-0,170
	Longitud [L (mm)]	-0,071	0,316	-0,046
	Diámetro máximo [DM (mm)]	-0,025	0,199	-0,196
	Rella [Relación ente L y DM]	-0,085	0,268	0,144
	Distancia al DM [DDM (mm)]	-0,046	0,247	-0,125
	Dureza con piel (Kg/cm ²)	0,115	-0,211	-0,242
	Dureza sin piel (Kg/cm ²)	-0,052	-0,119	-0,084
	Azúcares totales (°Brix)	0,032	-0,081	-0,110
	pH del zumo	-0,015	-0,045	-0,038
	Ácido málico	-0,032	0,070	-0,140
	Posición del DM	En el medio	0,068	-0,033
		Ligeramente hacia el cáliz	-0,058	-0,020
		Claramente hacia el cáliz	-0,013	0,068
	Perfil lateral	Cóncavo	-0,085	0,102
		Recto	-0,002	0,011
		Convexo	0,073	-0,092
	Código de forma		-0,076	0,163
		Amarillo	0,007	0,030
		Amarillo ocre	0,076	0,132
	Color de la epidermis	Amarillo verdoso	-0,003	0,060
		Verde	0,057	-0,031
		Verde amarillento	-0,060	-0,126
	Color de la chapa	Naranja	0,063	0,240
		Roja	-0,063	-0,240
		Pálida	0,026	0,273
	Intensidad de la chapa	Media	-0,061	-0,146
		Fuerte	0,037	-0,117
		Sin chapa	0,107	-0,099
	Tipo de chapa	A rayas gruesas	-0,025	0,032
		A manchas	0,005	0,292
		Salpicada	0,018	-0,032
		Coloreada a lavada	-0,105	-0,104
	Cantidad de “russetting”	0-25%	0,024	0,044
		26-50%	-0,033	0,027
		51-75%	-0,024	0,267
		76-100%	0,028	-0,248
	Textura de la pulpa	Fina	-0,020	0,188
		Media	0,002	-0,073
		Basta	0,011	-0,059
	Jugo de la pulpa	Seca	0,013	0,033
		Media	0,061	-0,078
		Jugosa	-0,063	0,044
	Dulzor de la pulpa	Ausente	0,027	0,078
		Débil	0,009	0,069
		Medio	0,027	-0,154
		Fuerte	-0,053	0,057
	Presencia de moteado	Sin moteado	0,057	-0,232
		Moderados	0,017	0,261
		Fuertes	-0,082	0,009

B, C y C3, la yema empieza a hincharse; D y D3, aparición de los botones florales; E, los pétalos dejan ver los sépalos; E2, primera flor; IF 5% de las flor abierta; PF, plena floración; FF, 95% de las flores abiertas; G, caída de los primeros pétalos; H, caída de los últimos pétalos; I y J, engrosamiento de los frutos; R, recolección de los frutos.

5. CONCLUSIONES

- 5.1 De las 221 accesiones del Banco de Germoplasma del CIAM se han diferenciado 127 genotipos mediante 19 SSRs, con una tasa de clonalidad del 43%, lo que indica la importancia de esta técnica para detectar duplicaciones, sinonimias y errores de identificación; así como la dificultad de diferenciar por morfología las variedades recogidas en el Banco de Germoplasma y la falta de herramientas moleculares en el momento del establecimiento de las colecciones.
- 5.2 Los mecanismos de diversificación del peral en la colección del CIAM han sido, por orden de importancia, la selección de triploides con un 38%, la hibridación con un 16%, y las introgresiones con un 4%. Las hibridaciones detectadas en este estudio (16%) fueron demostradas con SSRs al compartir los genotipos alelos para todos los loci evaluados. Esta situación fue similar a la encontrada en la colección de manzano del CIAM. Las introgresiones se deben al cambio de la denominación por parte del agricultor, seguramente ante la dificultad de la identificación morfológica.
- 5.3 El elevado porcentaje de triploides en la colección del CIAM (38%), porcentaje superior al encontrado en manzano (29%), se debe a la selección por parte de los agricultores a favor de estos individuos, propagándolos por injerto. Los individuos triploides produjeron, de media, frutos un 17% más grandes y pesados que los diploides, porcentaje similar al encontrado en manzano. Los triploides en peral han resultado de la unión de un óvulo o el espermatozoide no reducido con un gameto normal, como se explicó por Einset (1952) y se confirmó para manzano con SSRs (Ramos-Cabrer et al., 2007).
- 5.4 Los SSRs empleados han permitido detectar la estructura genética en la colección y cultivares de referencia mediante un método Bayesiano, con cuatro poblaciones reconstruidas (RPPs): i) genotipos locales con la variedad ‘Mantecosa Hardy’; ii) genotipos locales con cultivares de franceses e ingleses, entre ellas ‘Williams’; iii) genotipos locales, probablemente con la contribución genética de las especies locales; y iv) cultivares asiáticos. Estos cuatro grupos evolucionaron de forma independiente.

- 5.5 No se ha encontrado relación entre la variación genética y el origen geográfico local de las muestras evaluadas, puesto que tres de las cuatro poblaciones reconstruidas estuvieron relacionadas con cultivares comerciales, dos de ellos franceses e ingleses y uno asiático.
- 5.6 La diferenciación genética entre RPPs ha sido baja y se ha reflejado también en las características morfológicas y estadios fenológicos, de tal manera que las RPPs son difícilmente distinguibles, lo cual es congruente con la excelente calidad de los cultivares de referencia que parece que están implicados en su origen, ‘Mantecosa Hardy’ y ‘Williams’, que habrían dado lugar a descendencias con características variables, pero muy similares. La dificultad de distinguir entre RPPs mediante morfología parece indicar que la contribución de los cultivares foráneos y posterior selección de los agricultores, ha dado lugar a características comunes en cada una de las colecciones.
- 5.7 Las principales diferencias fenotípicas entre los genotipos han sido, por orden de importancia de las componentes principales: i) la fenología de la floración; ii) el tamaño y la forma del fruto; y iii) la fecha de recolección, el color de la chapa, el “russeting”, la presencia de moteado en el fruto y la dureza de la pulpa. Algunas de estas características también han sido importantes en la diferenciación de cultivares de manzano gallegos, lo cual está relacionado con el interés de los agricultores por la mejora de la producción por estas características.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AB - Applied Biosystems. (2009). *Peak Scanner™ Software v1.0*. Obtenido de <https://products.appliedbiosystems.com/ab/en/US/adirect/ab?cmd=catNavigate2&catID=603624>.
- ADAMS, R.; BROWN, K.; HAMILTON, M. (2004). The impact of microsatellite electromorph size homoplasy on multilocus population structure estimates in a tropical tree (*Corythophora alta*) and an anadromous fish (*Morone saxatilis*). *Molecular Ecology*, 13 (9):2579 - 2588.
- ADDINSOFT. (2009). *XLSTAT PRO*. Obtenido de XLSTAT: <http://www.xlstat.com/en/products/>
- AEDO, C.; ALDASORO, J.J. (1998). *Pyrus* sp. En F. M. GARMENDIA, C. N. ARANDA, S. CASTROVIEJO (Eds), *Flora Ibérica: Plantas vasculares de la Península Ibérica y Islas baleares - Rosaceae* (Vol. 6, págs. 433-438). Madrid: Real Jardín Botánico.
- ALONSO DE HERRERA, G. (1818). *Agricultura General. Tomo II*. Madrid: En la Imprenta Real.
- ALSTON, F.H.; WATKINS, R. (1977). La creation de nouvelles varietes de pommes a East Malling. *Le Fruit Belge*, 45(4):205-212.
- BAILEY, D. (1983). Isozymic variation and plant breeders' rights. En S. TANSKLEY., T. ORTON, *Isozymes in Plant Genetics and Breeding* (Part A, págs. 425-440). Amsterdam: Elsevier Science Publishers.
- BALLOUX, F.; GOUDET., J. (2002). Statistical properties of population differentiation estimators under stepwise mutation in a finite island model. *Molecular Ecology*, 11:771-783.
- BAO, L.; CHEN, K.; ZHANG, D.; CAO, Y.; YAMAMOTO, T.; TENG, Y. (2007). Genetic diversity and similarity of pear (*Pyrus* L.) cultivars native to East Asia revealed by SSR (simple sequence repeat) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54:959-971.
- BARNAUD, B.; DEU, M.; GARINE, E.; McKEY, D.; JOLY, H.I. (2007). Local genetic diversity of sorghum in a village in northern Cameroon: structure and dynamics of landraces. *Theoretical and Applied Genetics*, 114:237-248.
- BASSIL, N.; POSTMAN, J.D. (2010). Identification of European and Asian pears using EST-SSRs from *Pyrus*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57:357-370.
- BASSIL, N.V.; POSTMAN, J.D.; NEOU, C. (2005). *Pyrus* microsatellite markers from GenBank sequences. *Acta Horticulturae*, 671:289-292.
- BASSIL, N.; HUMMER, K.E.; POSTMAN, J.D.; LAWLISS, L.; DOLAN, S. (2008). Molecular fingerprints identify historic pear trees in two U.S. National Parks. *Acta Horticulturae*, 800:417- 422.
- BASSIL, N.; HUMMER, K.E.; POSTMAN, J.D.; FAZIO, G.; BALDO, A.; ARMAS, I.; WILLIAMS, R. (2009). Nomenclature and genetic relationships of apples and pears from Terceira Island. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56:339-352.
- BATES, R.P.; MORRIS, J.R.; CRANDALL, P.G. (2001). *Principals and practices of small - and medium - scale fruit juice processing*. FAO - Agricultural Services Bulletin, Rome, n. 146, 35p.

- BELKHIR, K.; BORSA, P.; CHIKHI, L.; RAUFASTE, N.; BONHOMME, F. (1996-2004). GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- BELL, R.; QUAMME, H.; LAYNE, R.E.; SKIRVIN, R.M. (1996). Pears. En J. JANICK, J.N. MOORE, *Fruit Breeding, Volume 1: Tree and Tropical Fruits* (Vol. 1, págs. 441-314). New York: John Wiley Sons.
- BENZÉCRI, J.P. (1973). Analyse des Données: Tôme 2: L' Analyse des correspondances. Paris: Dunod.
- BIANCHI, V.; VENTURI, S.; FACHINELLO, J., TARTARINI, S., SANSVINI, S.I. (2002). Marcatori AFLP e SSR, rivolutivi nella identificazione genetica delle varietà di susino. *Rivista di Frutticoltura*, (4):83-87.
- BOCCACCI, P.; AKKAK, A.; BOTTA, R. (2006). DNA typing and genetics relations among European hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars using microsatellite markers. *Genome*, 49:598-611.
- BRETON, C.; TERSAC, M.; BERVILLÉ, A. (2006). Genetic diversity and gene flow between the wild olive (oleaster, *Olea europaea* L.) and the olive: several Pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin suggested by simple sequence repeats analysis. *Journal of Biogeography*, 33:1916-1928.
- BREZHNEV, D.; KOROVINA, O. (1981). *Wild relatives of cultivated plants in the flora of the USSR*. Leningrad, Leningrad: Kolos.
- BRINI, W.; MARS, M.; HORMAZA, J. I. (2008). Genetic diversity in local Tunisian pears (*Pyrus communis* L.) studied with SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 4:337-341.
- BROOKFIELD, J.F.Y. (1996). A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology*, 5:453-455.
- BROOKS, R.; OLMO, H. (1997). *Register of Fruit Nut Varieties* (3^a ed.). Alexandria: ASHS Press.
- BROWICZ, K. (1984). *Prunus, Amygdalus, Malus, Pyrus*. En P.H. DAVIS (Ed), *Flora of turkey* (Vol. 4, pág. 676). Edinburgh, Reino Unido: Edinburgh University Press.
- BROWN, S.K. (1992). Genetics of Apple. En J. JANICK (Ed), *Plant Breeding Reviews*, (Vol. 9, págs. 333-386). John Wiley & Sons, Inc.
- CAVALLI-SFORZA, L.L.; MANOZZI, P.; PIAZZA, A. (1994). The History and Geography of Human Genes. Princeton University Press.
- CHAKRABORTY, R.; JIN, L. (1993). Determination of relatedness between individuals using DNA fingerprinting. *Human Biology*, 65:875-895.
- CHAKRABORTY, R.; DE ANDRADE, M.; DAIGER, S.P.; BUDOWLE, B. (1992). Apparent heterozygote deficiencies observed in DNA typing data and their implications in forensic applications. *Annals of Human Genetics*, 56:45-47.
- CUNHA, J.; BALEIRAS-COUTO, M.; CUNHA, J.P.; BANZA, J.; SOVERAL, A.; CARNEIRO, L.C.; EIRAS-DIAS, J.E. (2007). Characterization of Portuguese populations of *Vitis vinifera* L. ssp. *sylvestris* (Gmelin) Hegi. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54:981-988.

- CURTU, A.; FINKELDEY, R.; GAILING, O. (2004). Comparative sequencing of a microsatellite locus reveals size homoplasy within and between European oak species (*Quercus* spp.). *Plant Molecular Biology*, 22:339-346.
- DANE, F.; HAWKINS, L.K.; HUANG, H. (1999). Genetic variation and population structure of *Castanea pumila* var. *ozarkensis*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 124:666-670.
- D.O.C.O. (1994). Reglamento (CE) N° 2100/94 del Consejo de 27 de Julio de 1994. D.O.C.O. 1-09-1994.
- DECROOCQ, V.; HAGEN, L.; FAVÉ, M.G.; EYQUARD, J.P.; PIERRONNET, A. (2004). Microsatellite markers in the hexaploid *Prunus domestica* species and parentage lineage of three European plum cultivars using nuclear and chloroplast simple-sequence repeats. *Molecular Breeding*, 13:135-142.
- DE CAPMANY, A. (1817). Nuevo diccionario francés-español. Madrid: Imprenta de Sancha.
- DHILLON, B. S.; DUA, P. B.; BISHT, I. S. (2004). On-farm conservation of plant genetic resources for food and agriculture. *Current Science*, 87 (5,10):557-558.
- DÍAZ-LOSADA, E.; TATO-SALGADO, A.; RAMOS-CABRER, A.; RÍO-SEGADE, S.; CORTÉS-DIÉGUEZ, S.; PEREIRA-LORENZO, S. (2010). Twenty microsatellites (SSRs) reveal two main origins of variability in red grapevine cultivars from Northwestern Spain. *Vitis*, 49(2):50-52.
- DOS SANTOS, A.R.F.; RAMOS-CABRER, A.M.; DIAZ-HERNANDEZ, M.; PEREIRA-LORENZO, S. (2011). Genetic variability and diversification process in local pear cultivars from northwestern Spain using microsatellites. *Tree Genetics and Genomes*, en prensa.
- ECCHER ZERBINI, P.; GRAZIANETTI, S.; GRASSI, M.; DE COLELLIS, G. (1998). Eating quality of 'Comice' pears in relation to maturity at harvest and storage and ripening conditions. *Acta Horticulturae*, 464:484.
- EISEN, J.A (1999). Mechanistic basis for microsatellite instability. En D. GOLDSTEIN, C. SCHÖTTERER (Eds), *Microsatellites: Evolution and Applications* (págs. 34-48). Oxford: Oxford University Press.
- EINSET, J. (1948). The occurrence of spontaneous triploids and tetraploids in apples. *Proceedings of the Journal of the American Society for Horticultural Science*, 51:61-63.
- EINSET, J. (1952) Spontaneous polyploidy in cultivated apples. *Proceedings of the Journal of the American Society for Horticultural Science*, 59:291-302.
- EINSET, J.; LAMB, B. (1951). Chromosome numbers of apple varieties and sports III. *Proceedings of the Journal of the American Society for Horticultural Science*, 58:103-108.
- ELLEGREN, H. (2004). Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*, 5:435-445.
- ELLIS, J.R.; BURKE, J.M. (2007). EST-SSRs as a resource for population genetic analyses. *Heredity*, 99:125-132.

- ESCOFIER, B.; PAGÈS, J. (1990). *Analyses factorielles simples et multiples*. Paris: Dunod.
- ETIENNE, C.; MOING, A.; DIRLEWANGER, E.; RAYMOND, P.; MONET, R.; ROTHAN, C. (2002). Isolation and characterization of six peach cDNAs encoding key proteins in organic acid metabolism and solute accumulation: involvement in regulating peach fruit acidity. *Physiologia Plantarum*, 114(2):259-270.
- EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14:2611-2620.
- EVANS, K.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, F.; GOVAN, C. (2009). Harmonising fingerprinting protocols to allow comparisons between germplasm collections - *Pyrus*. *Acta Horticulturae*, 814:103-106.
- EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHENEIDER, S. (2005). Arlequin version 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50. Disponible en cmpg.unibe.ch/software/arlequin3.
- FACHINELLO, J.C.; BIANCHI, V.J.; SCHUCH, M.W.; SANSAVINI, S. (2005). Caracterização molecular de cultivares de pessegueiro e nectarineira com microssatélites. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26(3):490-493.
- FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J.K. (2003). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data: Linked Loci and Correlated Allele Frequencies. *Genetics*, 164:1567-1587.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (1998). *The state of the world's plant genetic resources for food and agriculture*. Obtenido de <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPS/Pgrfa/pdf/swrfull.pdf>
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2004). *Statistics Data Base*. Obtenido de http://www.fao.org/agricultural_statistics
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2005). *Faostat Database*. Obtenido de <http://www.fao.org>
- FAORO, I.; YASUNOBU, Y. (2001). Cultivares e porta-enxertos de pereira japonesa. *JICA Boletim Informativo*, (3):7.
- FELSENSTEIN, J. (1982). How can we infer geography and history from gene frequencies? *Journal of Theoretical Biology*, 96:9-20.
- FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, F.; HARVEY, N.G.; JAMES, C.M. (2006). Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from European pear (*Pyrus communis* L.). *Molecular Ecology Notes*, 6(4):1039-1041.
- FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, F.; EVANS, K.M.; CLARKE, J.B.; GOVAN, C.L.; JAMES, C.M.; MARIC, S.; TOBUTT, K.R. (2008). Development of an STS map of an interspecific progeny of *Malus*. *Tree Genetics and Genomes*, 4:469-479.
- FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. (1996). *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética* (2ª ed.). Brasília: EMBRAPA-CENARGEN.

- FISHER, M. (2009). Pear Breeding. En S. MOHAN JAIN, P. PRYADARSHAN (Eds.). *Breeding Plantation Tree Crops: Temperate Species* (págs. 1-26). New York: Springer.
- FISHER, M.; WEBER, H. (2005). *Birnenanbau, integriert und biologisch*. Stuttgart: Eugen Ulmer.
- FJELLSTROM, R.G.; PARFITT, D.E.; MCGRANAHAN, G.H. (1994) Genetic relationships and characterization of Persian walnut (*Juglans regia*) cultivars using restriction-fragment-length-polymorphisms (RFLPs). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119:833–839.
- FLECKINGER, J. (1964). Phénologie et arboriculture fruitière. En P. GRISVARD, YV.C. CHAUDUN (Eds.), *Le bon jardinier* (Tome I, 2ème partie, págs. 362-372). Paris: La Maison Rustique.
- FORD-LLOYD, B. (2005). Genotyping in Plant Genetic Resources. En R.J. HENRY (Ed), *Plant Genotyping: the DNA Fingerprinting of Plants* (pág. 325). Wallingford: CABI Publishing.
- FORNECK, A. (2005). Plant Breeding: Clonality – A Concept for Stability and Variability During Vegetative Propagation. *Progress in Botany*, 66:164-182.
- FREITAS, F.; MORETZSOHN, M.; VALLS, J. (2007). Genetic variability of Brazilian Indian landraces of *Arachishypogaea* L. *Genetics and Molecular Research*, 6(3):675-684.
- GAO, L.Z.; ZHANG, C.H.; JIA, J.Z. (2005). Cross-species transferability of rice microsatellites in its wild relatives and the potential for conservation genetic studies. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52:931-940.
- GARCIA MARTÍNEZ, X.R. (1991). *Guía das plantas con flores de Galicia* (Vol. I). Vigo: Edicións Xerais.
- GEPTS, P. (2004). Domestication as a long-term selection experiment. *Plant Breeding Reviews*, 24:1–44
- GIANFRANCESCHI, L.; SEGLIAS, N.; TARCHINI, R.; KOMJANC, M.; GESSLER, C. (1998). Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. *Theoretical and Applied Genetics*, 96:1069-1076.
- GIL-ALBERT VELARDE, F. (1995). Tratado de arboricultura frutal. Volumen 4. Madrid: Mundi-Prensa.
- GLENN, T.; SCHABLE, N. (2005). Isolating microsatellite DNA loci. En E.A. ZIMMER, E. ROALSON (Eds.), *Molecular Evolution: Producing the Biochemical Data* (Part B, págs. 202-222). San Diego: Academic Press.
- GOLDSTEIN, D.B.; RUIZ LINARES, A.; CAVALLI-SFORZA, L.L.; FELDMAN, M.W. (1995). An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci. *Genetics*, 139(1):463-471.
- GOODMAN, M.M. (1973). Genetic distances: measuring dissimilarity among populations. *Yearbook of Physical Anthropology*, 17:1-38.
- GREEN, R.H. (1979). *Sampling design and statistical methods for environmental biologists*. New York: John Wiley & Sons.

- HADONOU, A.M.; SARGENT, D.J.; WILSON, F.; JAMES, C.M.; SIMPSON, D.W. (2004). Development of microsatellite markers in *Fragaria*, their use in genetic diversity analysis, and their potential for genetic linkage mapping. *Genome*, 47:429-438.
- HAMPL, V.; PAVLÍČEK, A.; FLEGR, J. (2001). Construction and bootstrap analysis of DNA fingerprinting-based phylogenetic trees with a freeware program FreeTree: Application to trichomonad parasites. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51:731-735.
- HANCOCK, J.F.; LOBOS, G.A. (2008). Pears. En J.F. HANCOCK (Ed), *Temperate Fruit Crop Breeding: Germplasm to Genomics* (págs. 299-325). Dordrecht: Springer Verlag.
- HARDY, O.J.; VEKEMANS, X. (2002). SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, 2:618-620.
- HAYASHI, T.; YAMAMOTO, T. (2002). Genome research on peach and pear. *Plant Biotechnology Journal*, 4:45-52.
- HEBEL, I.; HAAS, R.; DOUNAVI, A. (2006). Genetic variation of Cammon Ash (*Fraxinus Excelsior* L.) populations from provenance regions in Southern Germany by using nuclear and chloroplast microsatellites. *Silvae Genetica*, 55(1):38-43.
- HEDRICK, U.P. (1922). *Cyclopedia of Hardy Fruits*. New York: The Macmillan Company.
- HEMMAT, M.; WEEDEN, N.F.; BROWN, S.K. (2003). Mapping and evaluation of *Malus xdomestica* microsatellites in apple and pear. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128:515-520.
- HERRERO, J. (1964). *Cartografía de frutales de hueso y pepita.(Mecanografía)*. Zaragoza: Consejo Superior de Investigaciones científicas. Estación de Aula Dei.
- HOCQUIGNY, S.; PELS, F.; DUMAS, V.; KINDT, S.; HELOIR, M.C.; MERDINOGLU, D. (2004). Diversification within grapevine cultivars goes through chimeric states. *Genome*, 47:579-589.
- HOKANSON, S.; SZEWC-MC FADDEN, A.; LAMBOY, W.; MCFERSON, J. (1998). Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus domestica* Borkh. core subset collection. *Theoretical and Applied Genetics*, 97(5-6):671-683.
- HOKANSON, K.E.; SMITH, M.J.; CONNOR, A.; LUBY, J.J.; HANCOCK, J.A. (2006). Relationships among subspecies of New World octoploid strawberry species, *Fragaria virginiana* and *Fragaria chiloensis*, based on simple sequence repeat marker analysis. *Canadian Journal Botany*, 84(12):1829-1841.
- HOLLAND, S.M. (2006). *Cluster analysis*. University of Georgia (EEUU). 6p. Obtenido de <http://www.uga.edu/strata/software/pdf/clusterTutorial.pdf>.
- HOLM, L.E.; LOESCHKE, V.; BENDIXEN, C. (2001). Elucidation of the molecular basis of a null allele in a rainbow trout microsatellite. *Marine Biotechnology*, 3:555-60.

- HUANG, X.; DANE, F.; KUBISIAK, T.L. (1998). Allozyme and RAPD analysis of the genetic diversity and geographic variation in wild populations of the American chestnut (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 85:1013–1021.
- HUETZ DE LEMPS, A. (1967) *Vignobles et vins du Nord-Ouest de L'Espagne, tome premier*. France: Impressions Bellenef, Bordeaux.
- HUSSAINI, S.H.; GOODMAN, M.M.; TIMOTHY, D.H. (1977). Multivariate analysis and geographical distribution of the world collections of finger millet. *Crop Science*, 17:257–263
- IBM - International Business Machines. (2009). Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), v.18. Obtenido de <http://www.spss.com/>
- IBPGR - Internacional Board for Plant Genetic Resources. (1983). *Descriptor list for pear (PYRUS)*. Brussels: CEC/IBPGR.
- ISEBRANDS, J.G.; CROW, T.R. (1975). *Introduction to uses and interpretation of principal component analysis in forest biology*. St. Paul: Forest Service-U.S.D.A.
- JACCARD, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin de la Societe Vaudoise Sciences Naturelles*, 44:223-270.
- JACKSON, J.E. (2003). *Biology of apples and pears*. Cambridge: Cambridge University Press.
- JAEGER, S.R.; LUND, C.M.; LAU, K.; HARKER, F.R. (2003). In search of the 'ideal' pear (*Pyrus* spp.): Results of a multidisciplinary exploration. *Journal of Food Science*, 68:1108-1117.
- JANICK, J. (1988). *Horticultural Science*. 4 ed. New York: W.H. Freeman Company Publisher.
- JANICK, J. (2002). The pear in history, literature, popular culture, and art. *Acta Horticulturae*, 596:41-52.
- JANICK, J.; MOORE, J. (1975). Advances in fruit breeding. *Purdue University Press*, 38-70.
- JONES, A.G.; STOCKWELL, C.A.; WALKER D; AVISE, J.C. (1998). The molecular basis of a microsatellite null allele from the White Sands pupfish. *Journal of Heredity*, 89:339-342.
- JOUBEUR, T.; PERIAM, N.; DE VICENTE, M.; KING, G.; ARÚS, P. (2000). Development of a second generation linkage map for almond using RAPD and SSR markers. *Genome*, 43:649-655.
- KAJIURA, I.; SATO, Y. (1990). Recent progress in Japanese pear (*Pyrus pirinifolia* Nakai) breeding, and descriptions of cultivars based on literature review. *Bulletin of the Fruit Tree Research Station*, (1): pp. 1-329.
- KAPPEL, F.; FISHER-FLEMING, R.; HOGUE, E.J. (1995). Ideal pear sensory attributes and fruit characteristics. *HortScience*, 30(5):988-993.
- KARP, A.; KRESOVICH, S.; BHAT, K.; AYAD, W.; HODGKIN, T. (1997). *Molecular tolls in plant genetic reosurces conservation: a guide to the technologies*. Rome: IPGRI Technical Bulletin.

- KATAYAMA, H.; UEMATSU, C. (2003). Comparative analysis of chloroplast DNA in *Pyrus* species: Physical map and gene localization. *Theoretical and Applied Genetics*, 106:303-310.
- KIMURA, T.; SHI, Y. Z.; SHODA, M.; KOTOBUKI, K.; MATSUTA, N.; HAYASHI, T.; BAN, Y.; YAMAMOTO, T. (2002). Identification of Asian pear varieties by SSR analysis. *Breeding Science*, 52:115-121.
- KONIECZNY, A.; AUSYBEL, F.M. (1993). A procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *Plant Journal*, 4(2):403-410.
- LATEUR, M.; MAGGIONI, L.; FISHER, M.; LATEUR, M.; LAMONT, E.J.; LIPMAN, E. (2002). Report of a Working Group on *Malus/Pyrus*. *Second Meeting 2-4* (págs. 84-85). Rome: International Plant Genetic Resources Institute.
- LAYNE, R.E.; QUAMME, H.A. (1975). Pears. En L. JANICK, J. N. MOORE (Eds.), *Advances in fruit breeding* (págs. 38-70). Indiana: Perdue University Press.
- LEBART, L.; MORINEAU, A.; TABARD, N. (1977). *Techniques de la description statistique*. Paris: Dunod.
- LEITE, D.L.; SOUZA, C.M. (2003). Polinização. En A. CETELLAS-QUEZADA, B.H. NAKASU; F. G. HETTER (Eds), *Pêra: Produção* (1ª ed., págs. 23-28). Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica.
- LI, Y.; KOROL, A.; FAHIMA, T.; BEILES, A.; NEVO, E. (2002). Microsatellites: genomic distribution, putative functions, and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology*, 11:2453-2465.
- LIEBHARD, R.; GIANFRANCESCHI, L.; KOLLER, B.; RYDER, C.D.; TARCHINI, R.; WEG, E.; GESSLER, C. (2002). Development and characterization of 140 new microsatellites in apple (*Malus xdomestica* Borkh.). *Molecular Breeding*, 10(4):217-241.
- LLAURADÓ, M.; MORENO-GONZÁLEZ, J. (1993). Classification of Northern Spanish Populations of Maize by Methods of Numerical Taxonomy, I, Morphological Traits. *Maydica*, 38:15-21.
- LO, E.Y.; STEFANOVIC, S.; DICKINSON, T.A. (2009). Population genetic structure of diploid sexual and polyploid apomictic hawthorns (Crataegus; Rosaceae) in the Pacific Northwest. *Molecular Ecology*, 18:1145-1160.
- LOMBARD, P.B. (1982). Pear pollination and fruit set. En T. VAN DER ZET, N. CHILDERS (Eds), *The pear* (págs. 91-103). Gainesville: Florida.
- LUQUE CABRERA, J.L.; HERRÁEZ, M.Á. (2001). *Texto ilustrado de biología molecular e ingeniería genética: conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud*. Madrid: Elsevier España.
- MAGGIONI, L.; FISHER, M.; LATEUR, M.; LAMONT E.J.; LIPMAN, E. (2004). Report of a Working Group on *Malus/Pyrus*. Second Meeting, 2-4 May 2002, Dresden-Pillnitz, Germany. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- MALEYEV, V.P. (1939). Pear-*Pyrus* L. En V.L. KOMAROV (Ed), *Flora of the USSR* (Vol. 9, págs. 338-339). Moscow-Leningrad: Publishing House of the USSR Academy of Sciences.

- MANNING, N. (2009). Physical, sensory and consumer analysis of pear genotypes among South African consumers and preference of appearance among European consumers. Stellenbosch University (Master of Science in Food Science). Stellenbosch, SU.
- MAPA. (2010). Anuario de estadística agroalimentaria y pesquera. Secretaria General Técnica del Ministerio de Agricultura. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- MARTIN, G.B.; ADAMS, M.W. (1987). Landraces of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in northern Malawi. II. Generation and maintenance of variability. *Economic Botany*, 41(2):204–215.
- MARTÍN, J.; BORREGO, J.; CABELLO, F.; ORTIZ, J. (2003). Characterisation of Spanish grapevine cultivar diversity using sequence-tagged microsatellite site markers. *Genome*, 46:10-18.
- MARTÍNEZ-GÓMEZ, P.; SÁNCHEZ-PÉREZ, R.; RUBIO, M.; DICENTA, F.; GRADZIEL, T.; SOZZI, G.O. (2005). Application of Recent Biotechnologies to *Prunus* Tree. *Ciencia e Investigación Agraria*, 32:73-96.
- MASSERON, A.; TRILLOT, M. (1991). Le poirier. Paris: CTIFL.
- McGOLDRICK, D.; HEDGECOCK, D.; ENGLISH, L.J.; BAOPRASERTKUL, P.; WARD, R.D. (2000). The transmission of microsatellite alleles in Australian and north American stocks of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): selection and null alleles. *Journal of Shellfish Research*, 19:779-788.
- MEIRMANS, P.; VAN TIENDEREN, P. (2004). Genotype and Genodive: two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes*, 4: 792-794.
- MICROSOFT. (2007). *Microsoft Office 2007*. Obtenido de <http://office.microsoft.com/en-us/products/FX101211561033.aspx>
- MILLA TAPIA, A.; CABEZAS, J.A.; CABELLO, F.; LACOMBE, T.; MARTÍNEZ ZAPATER, J.M.; HINRICHSEN, P.; CERVERA, M.T. (2007). Determining the Spain Origin of Representative Ancient American Grapevine Varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(2):242-251.
- MIRANDA, C.; URRESTARAZU, J.; SANTESTEBAN, L.G.; ROYO, J.B. (2010). Genetic diversity and structure in a collection of ancient spanish pear cultivars assessed by microsatellite markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 135:428-437.
- MITCHAM, E.; ELKINS, R. (2007). *Pear Production and handling manual*. California: University of California.
- MOHAMMADI, S.; PRASANNA, B.; SUDAN, C.; SINGH, N. N. (2008). SSR heterogenic patterns of maize parental lines and prediction of hybrid performance. *Biotechnology Biotechnological Equipment*, 22(1):541-547.
- MONCADA, X.; PELSY, F.; MERDINOGLU, D.; HINRICHSEN, P. (2006). Genetic diversity and geographical dispersal in grapevine clones revealed by microsatellite markers. *Genome*, 49:1459-1472.

- MONTE-CORVO, L.; CABRITA, C.O.; LEITAO, J. (2000). Assessment of genetic relationships among *Pyrus species* and cultivars using AFLP and RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47(3):257–265.
- MONTE-CORVO, L.; GOULAO, L.; OLIVEIRA, C. (2001). ISSR analysis of cultivars of pear and suitability of molecular markers for clone discrimination. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126:517–522
- MOORE, J. N.; BALLINGTON, J.R. (1992). Genetic resources of temperate fruit and nut crops. *Acta Horticulturae*, 290:1-62.
- MORIN, P.; LUIKART, G.; WAYNE, R. (2004). SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends Ecology Evolution*, 19:208-216.
- MOROCO, J. (2003). *Análise Estatística, com utilização do SPSS* (2ª ed.). Lisboa: Edições Silabo.
- NEI, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of National Academy of Sciences*, 70(12):3321-3323.
- NEI, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89:583-590.
- NUEZ, F.; CARRILLO, J. (2000). *Los marcadores genéticos en la mejora vegetal*. Valencia: Universidad Autónoma de Valencia.
- NUGENT, T. (1808). The new pocket dictionary of the French and English languages. London: J. Mawman.
- NÚÑEZ DE TABOADA. (1859). Dictionario francés-español. Paris: Casa de Rey y Belhatte.
- OTERO LÓPEZ, J.C.; TORA MARQUILLES, R. (1995). Las enfermedades en peral. *Vida rural*, (17):106-114.
- OTERO PEDRAYO, R. (1980). *Guía de Galicia*. Vigo: Galaxia.
- PATOCCHI, A.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, F.; EVANS, K.; GOBBIN, D.; REZZONICO, F.; BOUDICHEVSKAIA, A.; DUNEMANN, F.; STANKIEWICZ-KOSYL, M.; MATHIS-JEANNETEAU, F.; DUREL, C.E.; GIANFRANCESCHI, L.; COSTA F.; TOLLER, C.; COVA, V.; MOTT, D.; KOMJANC, M.; BARBARO, E.; KODDE, L.; RIKKERINK, E.; GESSLER, C.; VAN DE WEG W.E. (2009). Development and test of 21 multiplex PCRs composed of SSRs spanning most of the apple genome. *Tree Genetics and Genomes*, 5:211-223.
- PEMBERTON, J.M.; SLATE, J.; BANCROFT, D.R.; BARRET, J.A. (1995) Nonamplifying alleles at microsatellite loci: a caution for parentage and population studies. *Molecular Ecology*, 4:249-252.
- PEREIRA-LORENZO, S.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; MORENO-GONZALEZ, J. (1996a). Variability and grouping of Northwestern Spanish Chestnut Cultivars (*Castanea sativa*), I, Morphological traits. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121(2):183-189
- PEREIRA-LORENZO, S.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; MORENO-GONZALEZ, J. (1996b). Variability and grouping of Northwestern Spanish Chestnut Cultivars, II,

- Isoenzyme traits. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121(2):190-197.
- PEREIRA-LORENZO, S.; RAMOS-CABRER, A.M.; ASCASIBAR-ERRASTI, J.; PIÑEIRO-ANDION, J. (2003). Analysis of apple germplasm in Northwestern Spain. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128:67- 84.
- PEREIRA-LORENZO, S.; DÍAZ-HERNÁNDEZ, M.B.; RAMOS-CABRER, A.M. (2006). Use of highly discriminating morphological characters and isozymes in the study of Spanish chestnut cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 131:770-779.
- PEREIRA-LORENZO, S.; RAMOS-CABRER, A.M.; DIAZ-HERNANDEZ, M.B. (2007). Evaluation of genetic identity and variation of local apple cultivars (*Malus x domestica*) from Spain using microsatellite markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54:405-429.
- PEREIRA-LORENZO, S.; RAMOS-CABRER, A.M.; GONZALEZ-DIAZ, A. J.; DIAZ-HERNANDEZ, M. (2008). Genetic assessment of local apple cultivars from La Palma, Spain, using simple sequence repeats (SSRs). *Scientia Horticulturae*, 117:160-166.
- PEREIRA-LORENZO, S.; LOURENÇO COSTA, R.; RAMOS-CABRER, A.M.; MARQUES RIBEIRO, C.; SERRA DA SILVA, M.; MANZANO, G.; BARRENECHE, T. (2010). Variation in grafted European chestnut and hybrids by microsatellites reveals two main origins in the Iberian Peninsula. *Tree Genetics and Genomes*, 6:701-705.
- PEREIRA-LORENZO, S.; LOURENÇO COSTA, R.; RAMOS-CABRER, A.M.; CIORDIA-ARA, M.; MARQUES RIBEIRO, C.; BORGES, O.; BARRENECHE, T. (2011) Chestnut cultivar diversification process in the Iberian Peninsula, Canary Islands and Azores. *Genome*, 54:1-14.
- PERÉZ-GONZALEZ, S. (1992) Associations among morphological and phenological characters representing apricot germplasm in Central Mexico. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117:486–490
- PIERANTONI, L.; CHO, K.H.; SHIN, I.S.; CHIODINI, R.; TARTARINI, S.; DONDINI, L.; KANG, S.-J; SANSAVINI, S. (2004). Characterisation and transferability of apple SSRs to two European pear F1 population. *Theoretical and Applied Genetics*, 109:1519-1524.
- PLIESKE, J.; STRUSS, D. (2001). Microsatellite markers for genome analysis in *Brassica* L. development in *Brassic napus* and abundance in *Brassicaceae* species. *Theoretical and Applied Genetics*, 102:689-694.
- PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155:945–959.
- RAMOS-CABRER, A.; DIAZ-HERNANDEZ, M.; PEREIRA-LORENZO, S. (2007). Use of microsatellites in the management of genetic resources of Spanish apple cultivars. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82:257-265.
- RIEGER, M. (2006). *Introduction to Fruit Crops*. New York: Haworth Press.

- ROHRER, J.R.; AHMAD, R.; SOUTHWICK, S.M.; POTTER, D. (2004). Microsatellite analysis of relationships among North American plums (*Prunussect. Prunocerasus*, Rosaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 244(1-2):69-75.
- ROUSSET, F. (1997). Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145:1219-1228
- RUBTSOV, G.A. (1944). Geographical distribution of the genus *Pyrus* and trends and factors in its. *The American Naturalist*, 78:358-366.
- SÁNCHEZ, R.G. (2011). *Análisis multivariante para sociólogos mediante SPSS*. Granada: Universidad de Granada. Obtenido de <http://www.ugr.es/~ramongs/sociologia.htm>.
- SANTAMOUR, F.S.; McARDLE, A.J. (1983). Checklist of cultivars of Callery Pear (*Pyrus calleryana*). *Journal of Arboriculture*, 9:114-116.
- SANZOL, J.; HERRERO, M. (2002). Identification of self-incompatibility alleles in pear cultivars (*Pyrus communis* L.). *Euphytica*, 128:325-331.
- SARMIENTO, F.M. (1986). Catálogo de voces vulgares y en especial de voces gallegas de diferentes vegetales. J.L. PENSADO (Ed). Salamanca: Ediciones Universidad Salamanca.
- SAUER, J.D. (1993). *Historical Geography of Crop Plants: A Select Roster*. Florida: CRC Press.
- SAWAZAKI, H.E.; BARBOSA, W.; COLOMBO, C.A. (2002). Caracterização e identificação de cultivares e seleções de pereiras através de marcadores RAPD. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24(2):447-452.
- SAX, K. (1931). The origin and relationships of the Pomoideae. *Journal of the Arnold Arboretum*, 12:3-22.
- SIMONETTO, P.R.; GRELMANN, E.O. (1999). *Comportamento de cultivares de pereira na região serrana do Rio*. Porto Alegre: FEPAGRO.
- ŠIŠKO, M.; JAVORNIK, B. (2007). Effectiveness of AFLP and SSR molecular markers in determination of genetic relationships among pear (*Pyrus* spp.) genotypes. *Agricultura*, (5):21-24.
- SKENE, D.S. (1982). The development of russet, rough russet and cracks on the fruit of the apple Cox's Orange Pippin during the course of the season. *Journal of Horticultural Science*, 57:165-174.
- SLATKIN, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139:1463-1463
- SNEATH, P.H.; SOKAL, R.R. (1973). *Numerical Taxonomy*. San Francisco: Freeman.
- SOSINSKI, B.; GANNAVARAPU, M.; HAGER, L. (2000). Characterization of microsatellite markers in peach [*Prunuspersica* (L.) Batsch]. *Theoretical and Applied Genetics*, 101:421-428.
- STICKBERGER, M.W. (1985) *Genetics* (3ª ed.). New York: Macmillan.
- SUNNUCKS, P. (2000). Efficient genetic markers for population biology. *Trends Ecology Evolution*, 15(5):199-203.

- TASSINARI, P.; ZUCCHERELLI, S.; SANSAVINI, S. (2001). Contributo allo studio delle basi biologico-molecolari dell' incompatibilità gametofitica del pero (*Pyrus communis* L.). *Rivista della ortoflora fruticoltura Italiana*, 6:81-86.
- THOMÉ, O.T. (1885 - 1905). *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz - in Wort und Bild für Schule und Haus*. Obtenido de http://caliban.mpiz-koeln.mpg.de/~stueber/thome/Alphabetical_list.html
- TORRES, A. (1989). Isozyme Analysis of Tree Fruits. En D. SOLTIS, P. SOLTIS (Eds), *Isozymes in Plant Biology* (págs. 192-205). London: Chapman and Hall.
- TOTH, G.; GASPARI, Z.; JURKA, J. (2000). Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome Research*, 10:967-981.
- TURNER, J.; BAI, J.; MARIN, A.; COLONNA, A. (2005). Consumer sensory evaluation of pearcultivars in the Pacific Northwest, USA. *Acta Horticulturae*, 671:355-360.
- UNECE - United Nations Economic Commission for Europe. (2010). *Concerning the marketing and commercial quality control of pears*. UNECE STANDARD FFV-51. New York/Geneva: Naciones Unidas.
- UPOV - International Union for the Protection of New Varieties of Plants. (2000). Pear (*Pyrus communis* L.). *Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability*. TG/15/3. Geneva: UPOV.
- VALLS, J. (2007). Caracterização de Recursos Genéticos Vegetais. En L. NASS (Ed), *Recursos genéticos vegetais* (págs. 281-305). Brasília: Embrapa Recursos genéticos vegetais.
- VAN OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W.F.; WILLS, D.P.M.; SHIPLEY, P. (2004). Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4:535-538.
- VAUGHAN, J.G.; GEISSLER, C. A. (2009). *The New Oxford Book of Food Plants*. Oxford: Oxford University Press.
- VAVILOV, N. I. (1951). The origen, variation immunity and breeding of cultivated plants. En K. CHESTER (Ed), *Chronica Botanica* (Vol. 13 (1/6)). New York: The Ronald Press.
- VELHO, P.E.; VELHO, L.M. (2001). *Biotechnologia e recursos genéticos: Ação e Cooperação* (Documento II). Brasília-DF: Ministério da Ciência e Tecnologia.
- VIARD, F.; FRANCK, P.; DUBOIS, M. P.; ESTOUP, A.; JARNE, P. (1998). Variation of microsatellite size homoplasy across electromorphs, loci, and populations in three invertebrate species. *Journal of Molecular Evolution*, 47:42-51.
- VINATZER, B.; PATOCCHI, A.; TARTARINI, S.; GIANFRANCESCHI, L., SANSAVINI, S.; GESSLER, C. (2004). Isolation of two microsatellite markers from BAC clones of the Vf scab resistance. *Plant Breeding*, 123(4):321-326.
- VOLK, G.; RICHARDS, C.; HENK, A.; REILLEY, A.; BASSIL, N.; POSTMAN, J. (2006). Diversity of wild *Pyrus communis* based on microsatellite analyses. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 131 (3):408-417.
- WAPA - World Apple and Pear Association. (2011). *European apple and pear crop forecast*. Bruselas: WAPA.

- WEIR, B.S. (1996). *Genetics Data Analysis II – Methods for Discrete Population Genetic Data*, Sinauer Associates. Sunderland: Inc. Publishers
- WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38:1358-1370.
- WESTWOOD, M.N. (1982). *Fruticultura de zonas templadas*. Madrid: Mundi-Prensa.
- WRIGHT, S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19:395-420.
- WRIGHT, S. (1978). *Evolution and the Genetics of Populations vol. 4, Variability Within and Among Natural Populations*. Chicago: University of Chicago Press.
- WÜNSCH, A.; HORMAZA, J.L. (2007). Characterization, variability and genetic similarity of European pear with SSRs. *Scientia Horticulturae*, 113:37-43.
- XUAN, H. (2008). Identifying european pear (*Pyrus communis* L.) cultivars at the kob by using apple SSRs. *Acta Horticulturae*, 800:439-446.
- YAMAMOTO, T.; CHEVREAU, E. (2009). Pears Genomics. En K.M. FOLTA, S.E. GARDINER (Ed), *Genetics and genomics of Rosacea* (págs. 163-186). New York: Springer.
- YAMAMOTO, T.; TIMURA, T.; SAWAMURA, Y.; KOTOBUKI, K.; BAN, Y.; HAYASHI, T.; MATSUTA, N. (2001). SSRs isolated from apple can identify polymorphism and genetic diversity in pear. *Theoretical and Applied Genetics*, 102(6-7): 865-870.
- YAMAMOTO, T.; KIMURA, T.; SHODA, M.; IMAI, T.; SAITO, T.; SAWAMURA, Y.; KOTOBUKI, K.; HAYASHI, T.; MATSUTA, N. (2002a). Genetic linkage maps constructed by using an interspecific cross between Japanese and European pears. *Theoretical and Applied Genetics*, 106:9-18.
- YAMAMOTO, T.; KIMURA, T.; SHODA, M.; BAN, Y.; HAYASHI, T.; MATSUTA, N. (2002b). Development of microsatellite markers in the japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Molecular Ecology Notes*, 2:14-16.
- YAMAMOTO, T.; KIMURA, T.; SAWAMURA, Y.; MANABE, T.; KOTOBUKI, K.; HAYASHI, T.; BAN, Y.; MATSUTA, N. (2002c). Simple sequence repeats for genetic analysis in pear. *Euphytica*, 124:129-137.
- YAMAMOTO, T.; KIMURA, T.; TERAOKAMI, S.; NISHITANI, C.; SAWAMURA, Y.; SAITO, T.; KOTOBUKI, K.; HAYASHI, T. (2007). Integrated Reference Genetic Linkage Maps of Pear Based on SSR and AFLP Markers. *Breeding Science*, 57:321-329.
- YU, T.; ZHANG, P. (1979). Xinjiang pears, a new series of cultivars of pears in China. *Acta Horticulturae Sinica*, 6:27-32.
- ZANE, L.; BARGELLONI, L.; PATARNELLO, T. (2002). Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology*, 11(1): 1-16.
- ZEVEN, A.; ZHUKOVSKY, P. M. (1975). *Dictionary of cultivated plants and their centres of diversity*. Wageningen: PUDOC.
- ZHANG, L.Y.; RAVEL, C.; BERNARD, M.; BALFOURIER, F.; LEROY, P.; FEUILLET, C.; Sourdille, P. (2006). Transferable bread wheat EST-SSRs can be

- useful for phylogenetic studies among the *Triticeae*. *Theoretical and Applied Genetics*, 133 (3): 407-418.
- ZHUANG, F.Y.; CHEN, J.F.; STAUB, J.E.; QIAN, C.T. (2003). Assessment of genetic relationships among *Cucumis* spp. by SSR and RAPD marker analysis. *Plant Breeding*, 123(2): 167 - 172.
- ZIELINSKI, Q.B.; THOMPSON, M.M. (1967). Speciation in *Pyrus*: Chromosome Number and Meiotic Behavior. *Botanical Gazette*, 128(2): 109-112.
- ZOHARY, D.; HOPF, M. (2000). *Domestication of plants in the Old World*. Oxford: University Press.

